



BU bibliothèque Lyon 1

<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD-LYON 1
INSTITUT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES
FACULTE DE PHARMACIE DE LYON
8, avenue Rockefeller – 69373 Lyon Cedex 08

Année 2012

THESE n°20-2012

MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDE SPECIALISEES DE PHARMACIE INDUSTRIELLE
ET BIOMEDICALE

SOUTENU DEVANT LE JURY INTERREGIONAL LE 27 SEPTEMBRE 2012
PAR

Mlle Chloé LAMESA
NEE LE 2 JANVIER 1984 aux LILAS

CONFORMEMENT AUX DISPOSITIONS DE L'ARRETE DU 4 OCTOBRE 1988 TIENT LIEU DE

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Production de médicaments radiopharmaceutiques
marqués au Gallium-68 : évaluation des contraintes à
l'hôpital

JURY

PRESIDENT : **Monsieur Luc Zimmer**, Professeur d'Université et Praticien hospitalier

MEMBRES : **Madame Marie - Dominique Desruet**, Praticien hospitalier

Monsieur Eric Peyrin, Professeur d'Université

Monsieur Amaury Du Moulinet D'Hardemare, Maître de conférences

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Président de l'Université

M. A. BONMARTIN

Vice-Président du Conseil Scientifique

M. Jean-François MORNEX

Vice-Président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire M. Daniel SIMON

Composantes de l'Université Claude Bernard Lyon 1

SANTE

UFR de Médecine Lyon Est

Directeur : M. Jérôme ETIENNE

UFR de Médecine Lyon Sud Charles Mérieux

Directeur : M. François-Noël GILLY

Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Directeur : Mme Christine VINCIGUERRA

UFR d'Odontologie

Directeur : M. Denis BOURGEOIS

Institut des Techniques de Réadaptation

Directeur : M. Yves MATILLON

Département de formation et centre de recherche en Biologie Humaine

Directeur : M. Pierre FARGE

SCIENCES ET TECHNOLOGIES

Faculté des Sciences et des Technologies

Directeur : M. Fabien DE MARCHI

Activités Physiques et Sportives (STAPS)

Directeur : M. Claude COLLIGNON

Ecole Polytechnique Universitaire de Lyon (ex ISTIL)

Directeur : M. Pascal FOURNIER

I.U.T. LYON 1

Directeur : Christian COULET

Institut des Sciences Financières et d'Assurance (ISFA)

Directeur : M. Jean Claude AUGROS

I.U.F.M.

Directeur : M. Régis BERNARD

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

ISPB - Faculté de Pharmacie Lyon

Directrice : Madame La Professeur Christine VINCCIGUERRA

Directeurs Adjointes : Madame S. BRIANCON, Monsieur P. LAWTON, Monsieur P.

NEBOIS, Madame S. SENTIS, Monsieur M. TOD

Directeur Administratif : Madame D. GARDETTE

LISTE DES DEPARTEMENTS PEDAGOGIQUES

**DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE SCIENCES PHYSICO-CHIMIQUE ET PHARMACIE
GALENIQUE**

• **CHIMIE ANALYTIQUE, GENERALE, PHYSIQUE ET MINERALE**

Monsieur Jean-François SABOT (Pr)

Monsieur Alain BANNIER (MCU)

Monsieur Philippe BERNARD (MCU)

Madame Julie-Anne CHEMELLE (MCU)

Monsieur Raphaël TERREUX (MCU – HDR)

Monsieur Pierre TOULHOAT (PAST)

• **PHARMACIE GALENIQUE - COSMETOLOGIE**

Madame Stéphanie BRIANCON (Pr)

Madame Françoise FALSON (Pr)

Monsieur Hatem FESSI (Pr)

Madame Joëlle BARDON (MCU – HDR)

Madame Valérie BERTHOLLE (MCU)

Madame Marie-Alexandrine BOLZINGER (MCU - HDR)

Madame Sandrine BOURGEOIS (MCU)

Madame Ghania HAMDY - DEGOBERT (MCU)

Monsieur Fabrice PIROT (MCU – PH – HDR)

Madame Karine PORET-PADOIS (MCU)

Monsieur Patrice SEBERT (MCU - HDR)

- **BIOPHYSIQUE**

Monsieur Richard COHEN (PU - PH)

Monsieur Henri DECHAUD (MCU - PH - HDR)

Madame Laurence HEINRICH (MCU)

Monsieur David KRYZA (MCU - PH)

Madame Sophie LANCELOT (MCU – PH)

Monsieur Cyril PAILLER – MATTEI (MCU)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE PHARMACEUTIQUE DE SANTE PUBLIQUE

- **DROIT DE LA SANTE**

Monsieur François LOCHER (PU - PH)

Mademoiselle Valérie SIRANYAN (MCU)

- **ECONOMIE DE LA SANTE**

Madame Nora FERDJAQUI MOUMJID (MCU)

Monsieur Hans-Martin SPÄTH (MCU)

Madame Carole SIANI (MCU – HDR)

- **INFORMATION ET DOCUMENTATION**

Monsieur Pascal BADOR (MCU - HDR)

- **HYGIENE, NUTRITION, HYDROLOGIE ET ENVIRONNEMENT**

Madame Joëlle GOUDABLE (Pr)

- **HYGIENE, ENVIRONNEMENT ET BIOSECURITE**

Monsieur Dominique TREPO (MCU – PH - HDR)

- **DISPOSITIFS MEDICAUX**

Monsieur Gilles AULAGNER (PU – PH)

Monsieur Daniel HARTMANN (Pr)

- **QUALITOLOGIE - MANAGEMENT DE LA QUALITE**

Madame Alexandra CLAYER-MONTEMBAULT (MCU)

Monsieur François COMET (MCU)

Monsieur Vincent GROS (MCU PAST)
Madame Pascale PREYNAT (MCU PAST)

- **MATHEMATIQUES - STATISTIQUES**

Madame BARDEL-DANJEAN (MCU)
Madame Marie-Aimée DRONNE (MCU)
Madame Marie-Paule PAULTRE (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE SCIENCES DU MEDICAMENT

- **CHIMIE ORGANIQUE**

Monsieur Pascal NEBOIS (Pr)
Madame Nadia WALCHSHOFER (Pr)
Monsieur Zouhair BOUAZIZ (MCU - HDR)
Madame Christelle MARMINON (MCU)
Madame Sylvie RADIX (MCU - HDR)
Monsieur Luc ROCHEBLAVE (MCU)

- **CHIMIE THERAPEUTIQUE**

Monsieur Roland BARRET (Pr)
Monsieur Marc LEBORGNE (Pr)
Monsieur Laurent ETTOUATI (MCU - HDR)
Monsieur Thierry LOMBERGET (MCU - HDR)
Madame Marie-Emmanuelle MILLION (MCU)

- **BOTANIQUE ET PHARMACOGNOSIE**

Madame Marie-Geneviève DIJOUX-FRANCA (Pr)
Madame Anne – Emmanuelle DE BETTIGNIES (MCU)
Madame Isabelle KERZAON (MCU)
Monsieur Serge MICHALET (MCU)

- **PHARMACIE CLINIQUE, PHARMACOCINETIQUE ET EVALUATION DU MEDICAMENT**

Madame Roselyne BOULIEU (PU - PH)
Madame Magali BOLON - LARGER (MCU - PH)
Madame Céline PRUNET- SPANO (MCU)

Madame Catherine RIOUFOL (MCU – PH)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DE PHARMACOLOGIE, PHYSIOLOGIE ET TOXICOLOGIE

- **TOXICOLOGIE**

Monsieur Jérôme GUITTON (PU - PH)

Monsieur Bruno FOUILLET (MCU)

Madame Léa PAYEN (MCU - HDR)

Monsieur Sylvain GOUTELLE (AHU)

- **PHYSIOLOGIE**

Monsieur Christian BARRES (Pr)

Monsieur Daniel BENZONI (Pr)

Monsieur Alain BATAILLARD (MCU - HDR)

Madame Kiao Ling LIU (MCU)

Monsieur Ming LO (MCU - HDR)

- **PHARMACOLOGIE**

Monsieur Bernard RENAUD (Pr)

Monsieur Michel TOD (PU – PH)

Monsieur Jean – Marie VAUGEOIS (Pr)

Monsieur Luc ZIMMER (PU - PH)

Madame Bernadette ASTIER (MCU - HDR)

Monsieur Roger BESANCON (MCU)

Madame Evelyne CHANUT (MCU)

Monsieur Nicola KUCZEWSKI (MCU)

Madame Dominique MARCEL-CHATELAIN (MCU - HDR)

Monsieur Olivier CATALA (Pr PAST)

Monsieur Pascal THOLLOT (MCU PAST)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES A

- **IMMUNOLOGIE**

Monsieur Jacques BIENVENU (PU - PH)

Madame Cécile BALTER-VEYSSEYRE (MCU - HDR)

Monsieur Paul ROUZAIRE (AHU)

- **HEMATOLOGIE ET CYTOLOGIE**

Madame Christine TROUILLOT-VINCIGUERRA (PU - PH)

Madame Brigitte DURAND (MCU - PH)

Monsieur Olivier ROUALDES (AHU)

- **MICROBIOLOGIE ET MYCOLOGIE FONDAMENTALE ET APPLIQUEE AUX BIOTECHNOLOGIES INDUSTRIELLES**

Monsieur Patrick BOIRON (Pr)

Monsieur Jean FRENEY (PU - PH)

Madame Florence MORFIN (PU - PH)

Monsieur Didier BLAHA (MCU)

Madame Janine ANDRE (MCU - HDR)

Madame Anne DOLEANS JORDHEIM (MCU)

Madame Emilie FROBERT (AHU)

Madame Marie-Andrée MAZOYER (MCU - HDR)

Madame Véronica RODRIGUEZ-NAVA (MCU)

- **PARASITOLOGIE, MYCOLOGIE MEDICALE**

Madame Anne-Françoise PETAVY (Pr)

Madame Nathalie ALLIOLI (MCU)

Madame Samira AZZOUZ-MAACHE (MCU)

Monsieur Philippe LAWTON (MCU - HDR)

DEPARTEMENT PEDAGOGIQUE DES SCIENCES BIOMEDICALES B

- **BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULAIRE - BIOTECHNOLOGIE**

Madame Pascale COHEN (Pr)

Monsieur Alain PUISIEUX (Pr)

Monsieur Karim CHIKH (MCU - PH)

Madame Carole FERRARO – PEYRET (MCU)

Monsieur Bruno MATHIAN (MCU – PH – HDR)

Madame Caroline MOYRET – LALLE (MCU – HDR)

Madame Angélique MULARONI (MCU)

Madame Stéphanie SENTIS (MCU)

Madame Marie VILLEDIEU (MCU)

- **BIOLOGIE CELLULAIRE**

Monsieur Michel PELANDAKIS (MCU)

INSTITUT DE PHARMACIE INDUSTRIELLE DE LYON

Monsieur Philippe LAWTON (MCU – HDR)

Madame Angélique MULARONI (MCU)

Monsieur Patrice SEBERT (MCU – HDR)

Madame Valérie VOIRON (PAST)

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Madame Nathalie CARTISIER 85^{ème} section

Monsieur Waël ZEINYEH 86^{ème} section

Monsieur Anthony ZOROPOGUI 87^{ème} section

Pr : Professeur

PU – PH : Professeur Universitaire, Praticien Hospitalier

MCU : Maître de Conférences Universitaire

MCU – PH : Maître de Conférences Universitaire, Praticien Hospitalier

HDR : Habilitation à Diriger des Recherches

AHU : Assistant Hospitalier Universitaire

PAST : Personnel Associé Temps Partiel

Septembre 2011

REMERCIEMENTS

Je remercie sincèrement les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail qui met un point final à mes années d'études de Pharmacie :

Monsieur le Professeur Luc Zimmer, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Lyon et praticien hospitalier au CERMEP pour avoir présidé ma soutenance malgré le déplacement que cela lui occasionnait.

Monsieur le Professeur Eric Peyrin, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Grenoble.

Monsieur le Docteur Amaury Du Moulinet D'Hardemare, Maître de conférences à l'Université Joseph Fourier de Grenoble.

Madame le Docteur Marie-Dominique Desruet, Praticien hospitalier au CHU de Grenoble et directrice de ce travail.

Je souhaite remercier tout particulièrement le Professeur Dominique Trepo, coordinateur du DES de PIBM en Rhône-Alpes qui m'a montré que tous les projets sont réalisables et qu'un cursus d'internat se pense et se crée.

Un très grand merci au Professeur Catherine Ghezzi, responsable de l'unité mixte 1039 qui m'a autorisée à travailler où bon me semblait et qui me donne toute sa confiance.

Enfin et surtout au Docteur Marie-Dominique Desruet : c'est grâce à vous que tout cela fut possible. Durant cette année passée ensemble, j'ai tellement appris... Vous avez toujours pris le temps et su répondre à toutes mes interrogations (et elles étaient très, très nombreuses !). Votre soutien sans failles m'a permis de relativiser et aujourd'hui c'est lui qui me pousse à continuer mes projets. Je ne vous dirai jamais assez merci.

Je tiens également à remercier Clément Morgat, le Professeur Alain Faivre-Chauvet et l'entreprise ITG pour leur collaboration.

Merci à ARRONAX et surtout à Cyrille Alliot pour les dosages de métaux qu'il a réalisés. Malgré une certaine tristesse dans le fait que ce travail expérimental ne puisse pas apparaître dans mon mémoire, je sais que tu as tout fait pour et sans compter tes heures... encore merci

Lionel, je te remercie pour ton aide durant toutes ces années de Pharmacie et surtout les 3, 4, et 5^{ème} années, pour ta présence indéfectible durant ma préparation de concours et pour cette complicité toute islandaise qui continue de grandir encore et encore.

Enfin, à tous ceux qui sont toujours présents (ma famille, mes amis et mon ami). Vous n'avez jamais réellement compris les méandres de ce cursus (sauf quelques rares pharma), ni mes différents périples mais vous avez toujours su trouver les mots justes pour m'aider. Vous êtes mes piliers et je sais, que où que je sois, vous serez toujours à mes côtés. Un merci ne suffit pas et ce sera toujours comme ça...

SOMMAIRE

Remerciements	9
Sommaire	11
Table des illustrations	16
Liste des abréviations	18
Introduction	19
Revue Bibliographique	22
I La tomographie par émission de positons	23
I.A Le principe général	23
I.A.1 L'émission du positon et son interaction avec le milieu	23
I.A.2 La caméra de tomographie par émission de positons	24
I.A.3 La place de l'imagerie TEP en médecine nucléaire	24
I.B Les émetteurs de positons en TEP	26
I.B.1 La production des émetteurs par cyclotron	26
I.B.1.a Le principe	27
I.B.1.b Les cibles	29
I.B.2 Les générateurs	30
I.B.2.a Généralités	30
I.B.2.b Le principe d'équilibre	31
I.B.2.c Les considérations pratiques	34
I.B.2.d Les générateurs produisant des émetteurs de positons	36
I.C Les principaux médicaments radiopharmaceutiques	38
I.C.1 Le 18F-fluorodéoxyglucose	38
I.C.1.a L'oncologie	39
I.C.1.b La neurologie	40
I.C.1.c La cardiologie	40
I.C.1.d L'inflammation et les infections	40
I.C.2 La 18F-Choline	41
I.C.3 La 18F-DOPA	41
I.C.4 La 11C-méthionine	42
I.C.5 Le 13N-ammonium	43

II	Le Gallium-68	43
II.A	Propriété physico-chimique du Ga	43
II.A.1	Propriétés chimiques	43
II.A.2	Propriétés physiques	44
II.B	Production de l'élément père : le Germanium-68	45
II.B.1	Les radionucléides d'intérêt	46
II.B.2	Les cibles de Ga	47
II.B.3	Les cyclotrons produisant du Ge-68	48
II.B.4	Les traitements chimiques des cibles	48
II.B.5	La pureté du Ge-68 produit	49
II.C	Les chélatants bifonctionnels	50
II.C.1	La notion de stabilité	51
II.C.2	Les chélatants macrocycliques	52
II.C.2.a	L'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-N,N',N'',N'''-tétraacétate (DOTA)	53
II.C.2.b	L'acide 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacétique (NOTA)	53
II.C.3	Les chélatants acycliques : exemple de l'acide N,N'-bis[2-hydroxy-5-(carboxyéthyl)benzyl]éthylènediamine-N,N'- diacétique (HBED-CC)	55
II.D	Les analogues de la somatostatine marqués au Ga-68	55
II.D.1	Le contexte	56
II.D.1.a	Les tumeurs endocrines	56
II.D.1.b	Les récepteurs de la somatostatine	56
II.D.1.c	Place de la TEP dans l'exploration des TE	56
II.D.2	Les différents analogues	57
II.D.2.a	Le [68Ga-DOTA, Tyr ³]-octréotide (DOTA-TOC)	57
II.D.2.b	Le [68Ga-DOTA, 1-NaI ³]-octréotide (DOTA-NOC)	57
II.D.2.c	Le [68Ga-DOTA, Tyr ³ , Thr ⁸]-octréotide (DOTA-TATE)	58
II.D.2.d	Le [68Ga-DOTA-2-NAI, Tyr ³ , ThrNH ₂ ⁸]-octréotide (DOTA-LAN)	58
II.D.3	La biodistribution et la dosimétrie	59
II.D.3.a	La biodistribution	59
II.D.3.b	La dosimétrie	59
II.D.4	La place des analogues dans le diagnostic des TE	60
II.E	Les autres médicaments en clinique	61
II.E.1	La 68Ga-transferrine	61
II.E.2	L'anticorps bispécifique anti-MUC-1 / anti-Ga	62
II.E.3	Les analogues de la bombésine marqués au Ga-68	62
II.E.3.a	Le 68Ga-AMBA	62

II.E.3.b	Le $^{68}\text{Ga-BHZ}_3$	63
	<i>Evaluation des contraintes a l'hôpital.....</i>	64
I	<i>Choix du générateur de Ga-68</i>	65
I.A	Historique	65
I.B	Les générateurs basés sur la chromatographie d'échanges d'ions.....	66
I.B.1	Les principes généraux de l'échange d'ions.....	66
I.B.1.a	L'équilibre ionique.....	66
I.B.1.b	Les facteurs influençant la constante d'équilibre	67
I.B.1.c	La sélectivité	67
I.B.1.d	Les considérations pratiques pour le générateur Ga/Ge	68
I.B.2	Les matrices	68
I.B.2.a	Les matrices inorganiques	68
I.B.2.b	Les matrices organiques	69
I.C	Les générateurs commercialisés	70
I.C.1	Les différents générateurs	70
I.C.1.a	Le générateur d'Obninsk avec une matrice TiO_2	70
I.C.1.b	Le générateur de Eckert et Ziegler avec une matrice TiO_2	71
I.C.1.c	Le générateur de IThemba avec une matrice SnO_2	71
I.C.1.d	Le générateur de ITG avec une matrice pyrogallol.....	72
I.C.2	La réglementation des générateurs.....	72
I.C.3	Les contraintes liées aux générateurs.....	73
I.C.3.a	La stérilité.....	73
I.C.3.b	La dosimétrie du personnel.....	74
II	<i>L'éluat de Ga-68</i>	75
II.A	Monographie.....	75
II.A.1	Résumé de la monographie	75
II.A.2	Les contaminants	77
II.A.2.a	Le germanium-68	77
II.A.2.b	Les contaminants métalliques.....	78
II.B	La contrainte liée à l'éluat : l'étape de pré-purification	78
II.B.1	Les différentes méthodes	79
II.B.1.a	Fractionnement.....	79
II.B.1.b	Chromatographie par échanges d'anions	80
II.B.1.c	Chromatographie par échanges de cations.....	82

II.B.2	Les limites des méthodes de pré-purification.....	84
III	Les analogues de la somatostatine marqués au gallium 68 comme MRP	85
III.A	Le procédé de synthèse	85
III.A.1	La réaction de marquage	87
III.A.1.a	Les conditions de marquages	87
III.A.1.b	Les tampons réactionnels.....	87
III.A.1.c	Les peptides.....	88
III.A.2	La purification du produit marqué.....	89
III.B	Les contrôles qualité.....	89
III.B.1	La monographie de l'édotrétotide marqué au Ga-68 injectable	89
III.B.1.a	Les solvants résiduels	91
III.B.1.b	La stérilité et les endotoxines.....	92
III.B.2	Les contraintes liées aux méthodes de contrôles qualité.....	92
III.C	Le statut des médicaments produits.....	93
III.C.1	Exigences sur les matières premières.....	93
III.C.2	Exigences sur les MRP en essai clinique	94
IV	Les équipements et les locaux.....	95
IV.A	Les contraintes	95
IV.A.1	La radioprotection	95
IV.A.2	La stérilité	96
IV.B	Les pratiques hospitalières.....	97
V	L'automatisation.....	97
V.A	La problématique	97
V.B	Les différents appareils.....	98
V.B.1	Les modules de recherche	98
V.B.2	Les modules cliniques	100
V.C	La contrainte de l'automatisation : la validation de l'appareil	101
V.C.1	Les différentes étapes.....	102
V.C.1.a	La qualification d'installation	102
V.C.1.b	La qualification opérationnelle.....	102
V.C.1.c	La qualification de performance	102
V.C.2	L'automatisation à l'hôpital	102
	Conclusion	104

Bibliographie107
Annexe 1.....121

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1. Emission d'un positon et réaction d'annihilation.....	23
Tableau 1. Comparaison des coûts des principales techniques d'imagerie médicale ...	25
Figure 2. Photographie d'un cyclotron hospitalier	27
Figure 3. Schéma explicatif du phénomène d'accélération de la particule	28
Tableau 2. Méthodes de production usuelles pour les principaux émetteurs de positons	29
Figure 4. Schéma d'élution d'un générateur $^{99}\text{Mo} / ^{99\text{m}}\text{Tc}$	31
Figure 5. Cinétique de transition pour un générateur $\text{Mo-99} / \text{Tc-99m}$	33
Figure 6. Cinétique séculaire pour un générateur $\text{Ge-68} / \text{Ga-68}$	34
Tableau 3 Générateurs disponibles pour l'imagerie TEP.....	37
Figure 7. Représentations graphiques du glucose et du FDG.....	38
Tableau 4. Caractéristiques principales des radio-isotopes du Ga.....	45
Figure 8. Schéma de filiation du Ga-68.....	45
Tableau 5. Principales réactions pour la production de Ge-68	46
Figure 9. Rendement de production du Ge-68 en fonction de l'énergie.	47
Tableau 6. Caractéristiques de production du Ge-68 pour les principaux cyclotrons ...	48
Figure 10. Représentation schématique du DOTA	53
Figure 11. Représentation schématique du NOTA	53
Figure 12. Représentation schématique de l'HBED-CC	55
Tableau 7. Caractéristiques principales des générateurs commercialisés.....	70
Tableau 8. Résumé des paramètres qualités de la monographie de l'éluat de Ga-68..	76
Tableau 9. Caractéristiques des différentes méthodes de pré-purification	78
Tableau 10. Résultats des dosages de métaux et du Ge-68 pour la pré-purification par fractionnement	80
Tableau 11. Présentation des différents protocoles pour la pré-purification par colonne échangeuse d'anions	82
Tableau 12. Présentation des protocoles de pré-purification par chromatographie échangeuse de cations.....	84
Tableau 13. Conditions générales de synthèse selon le tampon de la réaction	86

Figure 13. Schéma des grandes étapes de la synthèse du 68-Ga DOTA-TOC	86
Tableau 14. Résumé de la monographie du 68GaDOTA-TOC injectable.....	91
Tableau 15. Caractéristiques générales des automates de synthèse	98
Figure 14. Photographie d'un module à système fixe et du circuit.....	99
Figure 15. Photographie d'un automate à cassette et d'une cassette.....	100

LISTE DES ABREVIATIONS

AMM : autorisation de mise sur le marché

AS : Activité spécifique

BPP : Bonnes pratiques de préparation

CE : capture électronique

CCM : chromatographie sur couche mince

CLHP : chromatographie liquide haute performance

DOPA : 3,4-dihydroxyphénylalanine

DOTA : acide 1,4,7,10-tétrazacyclododécane-N,N',N'',N'''-tétraacétate

DOTA-Ian : [DOTA-2-NAI, Tyr³, ThrNH₂⁸]-octréotide

DOTA-NOC : [DOTA, 1-Nal³]-octréotide

DOTA-TATE : [DOTA, Tyr³, Thr⁸]-octréotide

DOTA-TOC : [DOTA, Tyr³]-octréotide

EANM : association européenne de médecine nucléaire (*European Association of Nuclear Medicine*)

F-18 : Fluor-18

18F-FDG : 18F-fluorodéoxyglucose

Ga-68 : Gallium-68

Ge-68 : Germanium-68

HBED : Acide N,N'-bis(2-hydroxybenzyl)éthylènediamine-N,N'-diacétique

HEPES : Acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique

IAEA : *International Atomic Energy Agency*, agence internationale à l'énergie atomique

MRP : médicament radiopharmaceutique

NOTA : acide 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacétique

PhE : Pharmacopée Européenne

SSTR : sous type des récepteurs de la somatostatine

Tc-99m : Technétium-99 métastable

TEMP : tomographie d'émission monophotonique

TEP : tomographie par émission de positons

TE : tumeurs endocrines

INTRODUCTION

La tomographie par émission de positons (TEP) est une technique d'imagerie médicale non invasive étudiant la fonctionnalité des organes en complément des différentes techniques d'imagerie anatomiques comme la tomodensitométrie. Elle produit des images bi- ou tridimensionnelles après l'injection d'un médicament radiopharmaceutique (MRP) qui se distribue aux différents organes selon son affinité et dont la répartition sera détectée par un appareil de détection ou caméra grâce à l'émission de rayonnements ionisants.

En 2010, l'Institut National du Cancer recensait 77 détecteurs TEP en France et 28 en cours d'installation (1). La TEP est principalement utilisée en oncologie mais aujourd'hui elle s'est également développée en neurologie, en infectiologie et en cardiologie. La recherche en imagerie TEP est très active grâce notamment avec l'arrivée de nouveaux radionucléides émetteurs de positons comme le Ga-68.

Les médicaments radioactifs sont fournis par la radiopharmacie, unité de production dépendant de la pharmacie à usage intérieure. La radiopharmacie est fonctionnellement attachée au service de médecine nucléaire et participe à toutes les activités cliniques et de recherche du service.

Dans le cadre de l'émergence de nouveaux MRP émetteurs de positons comme le Ga-68, les enjeux majeurs pour la radiopharmacie sont le développement de nouvelles synthèses et le transfert de compétence en production clinique. Pour cela, l'unité doit s'intégrer dans un processus qualité globale à la limite de la production industrielle. Elle doit former un personnel hautement qualifié, fournir une documentation qualité complète sur les processus et la libération du produit. Elle doit continuer à répondre aux exigences de radioprotection et de sécurité pharmaceutique. Le radiopharmacien, responsable de la production, doit aujourd'hui avoir une polyvalence accrue par l'ajout de ces nouvelles missions et une compétence indispensable en recherche et développement.

Ce travail présente les enjeux majeurs dans le développement d'une nouvelle activité de production au sein de la radiopharmacie : la fabrication de médicaments radiopharmaceutiques marqués au gallium 68. La première partie présentera les activités de la TEP et les caractéristiques du Ga-68 en tant que candidat pour l'imagerie TEP en clinique. Puis dans une seconde partie, les contraintes de la mise en place de l'activité de

marquage au Ga-68 au sein d'une radiopharmacie hospitalière seront plus particulièrement détaillées avec l'exemple de médicaments qui aujourd'hui ont pris leur essor en Europe et s'implanteront bientôt en France.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I La tomographie par émission de positons

I.A Le principe général

I.A.1 L'émission du positon et son interaction avec le milieu

L'émission d'un positon ou particule β^+ est induite par la désintégration du noyau d'un élément père instable vers un élément fils plus stable. L'instabilité du noyau père est due à un excès de protons. Le noyau convertit alors un proton en neutron et émet dans le même temps un positon. Le positon est une particule ayant la même masse que l'électron mais de charge opposée. Durant son parcours, il est freiné par le milieu environnant (dans le cas de la médecine nucléaire, les tissus du patient) par la perte de son énergie cinétique. Lors de son arrêt, il interagit avec un électron du milieu créant deux photons γ de 511 keV (loi de conservation des masses) qui seront émis à 180° l'un de l'autre (fig. 1).

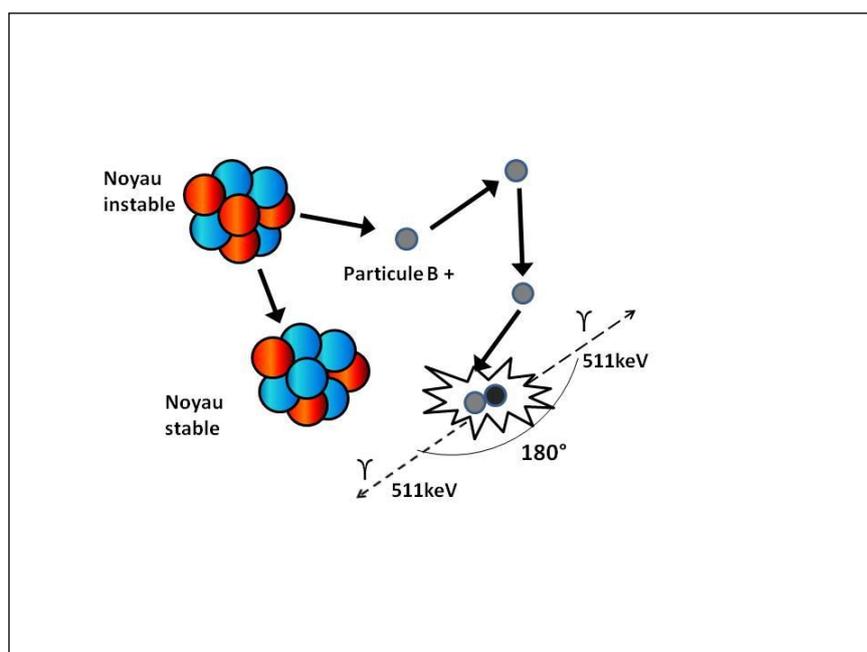


Figure 1. Emission d'un positon et réaction d'annihilation

Cette interaction est appelée la réaction d'annihilation. Seuls ces photons dits d'annihilation détectés en coïncidence seront utilisés pour la production de l'image en TEP.

I.A.2 La caméra de tomographie par émission de positons

La mesure d'un évènement en TEP correspond à la détection par les scintillateurs de deux photons d'annihilation de 511 keV émis en coïncidence. La détection de coïncidence se définit par la détection de deux évènements comptés dans un intervalle de temps très court et à 180° l'un de l'autre.

Lors de l'arrivée d'un photon γ incident sur la chaîne de détection, celui-ci interagit avec un électron du réseau cristallin du scintillateur cédant soit une partie de son énergie (diffusion Compton) soit la totalité de son énergie (effet photoélectrique ou diffusions Compton successives suivi d'un effet photoélectrique) (2). L'électron excite à son tour d'autres électrons du cristal créant le phénomène de scintillation. L'énergie des photons lumineux produits est proportionnelle à l'énergie du photon incident. L'énergie lumineuse est conduite par un guide de lumière jusqu'à la photocathode du tube photomultiplicateur. A l'anode du tube apparaît une impulsion électrique qui est analysée par un système électronique d'acquisition. La discrimination en temps dépend du circuit de coïncidence. Il relie deux détecteurs en vis-à-vis bloquant ainsi l'arrivée d'un photon isolé. Seuls les photons d'annihilation mesurés à quelques nanosecondes d'intervalle (fenêtre de coïncidence) entre les deux détecteurs seront pris en compte comme un évènement et serviront à la production de l'image.

I.A.3 La place de l'imagerie TEP en médecine nucléaire

Dans la pratique, la tomographie d'émission monophotonique (TEMP) reste la technique la plus utilisée en médecine nucléaire. Elle utilise des émetteurs de photons γ . Le plus utilisé d'entre eux est le Technétium-99 métastable produit par un générateur directement dans le centre de médecine nucléaire.

La TEMP et la TEP ont de nombreux points communs. Elles s'appuient toutes les deux sur la détection de photons γ et les étapes de reconstruction de l'image sont très similaires. Ces photons γ ont une certaine probabilité d'être absorbés (phénomène d'atténuation) ou d'être déviés (phénomène de diffusion) de leur trajectoire selon le matériau qu'ils traversent et leur énergie d'émission. L'atténuation par le milieu va diminuer le nombre de photons détectés provoquant une diminution du rapport signal

sur bruit de fond et une modification des contrastes. Les photons diffusés vont quant à eux engendrer du bruit de fond et induire des erreurs dans la localisation. Pour limiter ces phénomènes, les caméras sont munies de systèmes de collimation. La TEMP possède une collimation mécanique qui bloque les photons n'arrivant pas au détecteur avec le bon angle. La TEP utilise une collimation électronique reposant à la fois sur l'angle d'arrivée du photon sur le détecteur et sur le principe de la détection en coïncidence. De ce fait, la TEP possède une meilleure résolution, une plus grande sensibilité et un meilleur contraste que la TEMP.

Cependant, l'indication de la TEP reste limitée par son coût, notamment d'infrastructure avec la production des radionucléides émetteurs $\beta +$ par des cyclotrons proches du lieu d'utilisation. Comme pour le Tc-99m, le développement des générateurs de radionucléides $\beta +$ va permettre la production de différents médicaments radiopharmaceutiques *in situ*, diminuant ainsi le coût total de l'examen. L'appareil est également un investissement important pour le service. L'innovation technique liée aux détecteurs de haute sensibilité (nouveaux types de cristaux, amélioration des algorithmes de reconstruction) et à l'apparition d'appareils ayant une fonction scanner (TEP-scan), pour acquérir de façon simultanée localisation anatomique et fonctionnalité augmente le prix d'achat. Le tableau 1 (IAEA, 2010) présente une évaluation du coût pour différentes procédures d'imagerie (3).

Imagerie	Equipement (€*1000)	Implantation (€*1000)	Coût annuel (€*1000)	Consommables (€)	Nombres d'examen annuels	Prix par examen (€)
TEP-scan	2200	750	1177	400	2000	996
TEMP	490	60	419	50	2000	262
IRM	975	250	720	40	3000	234
Scanner	750	100	572	30	5000	103
échographie	135	-	144	40	2000	91

Tableau 1. Comparaison des coûts des principales techniques d'imagerie médicale

Aujourd'hui, la TEP est devenue un élément diagnostique incontournable dans l'exploration des cancers. Elle continue, malgré un prix qui reste élevé, à être une des techniques de référence en oncologie et poursuit son développement comme substitut de la TEMP dans de nombreuses spécialités médicales.

I.B Les émetteurs de positons en TEP

La découverte de la transformation nucléaire de l'Aluminium-27 en Phosphore-30 par le bombardement de particules à haute énergie issues d'une source de Polonium fut à l'origine de toute la recherche sur de nouveaux isotopes artificiels. Elle valut à F. Joliot et I. Joliot-Curie le prix Nobel de Chimie en 1935 (4) et permit d'ouvrir la voie à l'emploi d'isotopes à des fins scientifiques et médicales

Aujourd'hui, les émetteurs de positons utilisés en Médecine Nucléaire sont tous artificiels. Le nombre d'isotopes disponibles en clinique restent cependant restreint (période trop courte, énergie trop élevée, chimie complexe...) et font l'objet d'une recherche intensive dans l'élargissement de leur utilisation.

I.B.1 La production des émetteurs par cyclotron

Actuellement tous les émetteurs de positons employés en routine sont produits à partir d'accélérateurs de particules ou cyclotrons (fig. 2, APHP). Plus de 650 cyclotrons à visée médicale sont répertoriés dans le monde (5). Ce sont des cyclotrons de faibles énergies (9-19 MeV) produisant exclusivement des émetteurs de positons de période radioactive courte : Fluor-18 (F-18), Azote-13 (N-13), Carbone-11 (C-11) et Oxygène-15 (O-15). La plupart d'entre eux sont dédiés à la production industrielle du 18F-Fluorodéoxyglucose (18F-FDG) principal médicament utilisé en TEP (6).



Figure 2. Photographie d'un cyclotron hospitalier

1.B.1.a Le principe

Un cyclotron est un accélérateur de particules qui par l'application de petits voltages répétés, augmente la vitesse d'une particule et donc son énergie cinétique. La chambre d'accélération circulaire de l'appareil optimise ce phénomène. Quand la particule a atteint sa vitesse maximale, elle est orientée par des systèmes magnétiques vers une cible qui contient l'élément père (fig. 3, Encyclopaedia Britannica). L'irradiation du matériel de la cible produit par réaction nucléaire l'élément fils qui sera ensuite employé pour le marquage de molécules.

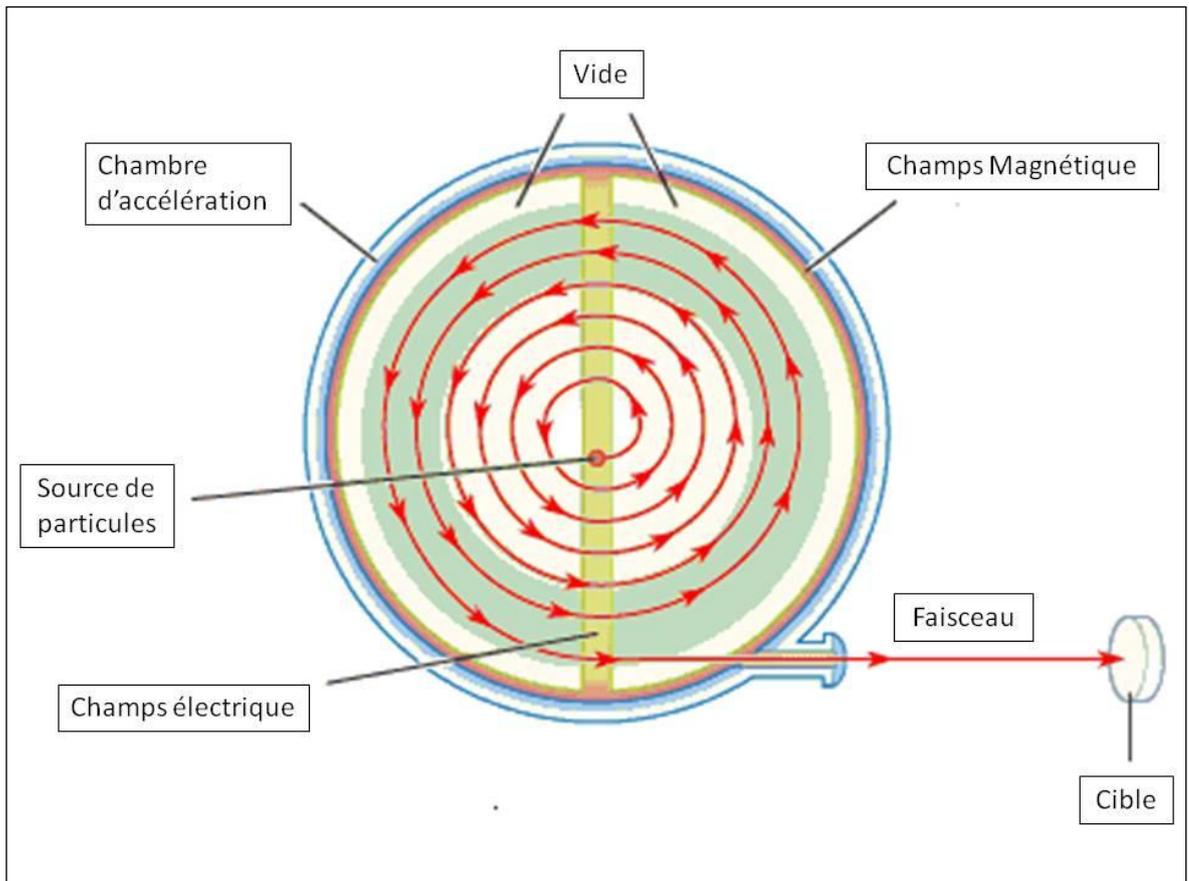
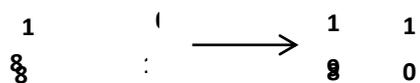


Figure 3. Schéma explicatif du phénomène d'accélération de la particule

Les cyclotrons de faibles énergies produisent des faisceaux de protons ou de deutérons.

En prenant l'exemple du F-18, la réaction de production s'écrit :



La nomenclature de ce type de réaction est internationale. Dans notre exemple, l'irradiation d'une cible d'Oxygène-18 par un flux de protons produit du Fluor-18 avec l'émission d'un neutron se note ${}^{18}\text{O}(\text{p},\text{n}){}^{18}\text{F}$.

Le tableau suivant présente les caractéristiques de production des différents émetteurs utilisés en clinique (tab. 2) (7). Plusieurs réactions sont possibles pour obtenir un même élément. Les critères déterminant le choix de la voie de production sont le type de cyclotron et la cible.

Nucléide	Période radioactive (min)	Probabilité de désintégration par positon (%)	Voie de production	Energie nécessaire (MeV)	cible	Forme chimique du produit
^{11}C	20,4	β^+ (99,8)	^{14}N (p, α)	13	$^{14}\text{N}_2(\text{O}_2)$	^{11}CO , $^{11}\text{CO}_2$
^{13}N	10,0	β^+ (100)	^{16}O (p, α)	16	H_2^{16}O	$^{13}\text{NO}_2^-$, $^{13}\text{NO}_3^-$
^{15}O	2,0	β^+ (99,9)	^{14}N (d,n)	8	$^{14}\text{N}_2(\text{O}_2)$	^{15}OO
^{18}F	109,6	β^+ (97)	^{18}O (p,n)	16	H_2^{18}O $^{18}\text{O}/(\text{F}_2)$	$^{18}\text{F}_{\text{aq}}^-$ $[\text{F}_2^{18}\text{F}]$
			^{20}Ne (d, α)	14	$\text{Ne}(\text{F}_2)$	$[\text{F}_2^{18}\text{F}]$

Tableau 2. Méthodes de production usuelles pour les principaux émetteurs de positons

1.B.1.b Les cibles

La sélection de la cible est un point crucial dans la production d'un isotope. Elle doit permettre d'extraire de façon efficace et rapide le radionucléide produit en évitant les contaminants. Les cibles peuvent être sous différents états de la matière : gazeux, liquide ou solide. Généralement, elles sont sous l'état gazeux pour obtenir du O-15 et du C-11 et liquides pour le F-18 et le N-13 (8). Leur forme dépendra des propriétés physiques et chimiques du matériel et sera optimisée pour améliorer le rendement de collision.

Le traitement des cibles est un problème important. L'extraction du produit a pour objectif de fournir sous la forme chimique adéquate le radionucléide afin qu'il puisse être utilisé. Pour cela, les cibles sont traitées dans des conditions spécifiques de pH et de température. L'extraction est délicate car les quantités en radionucléide sont de l'ordre de la pico à la femtomole. Pour isoler l'élément à l'état de trace, une substance ayant des propriétés similaires peut être adjointe, il s'agit d'un entraîneur (ex : l'entraîneur F_2 pour extraire le F-18). Lors du marquage, l'entraîneur entre en compétition avec l'isotope pour la fixation sur la molécule. Il diminue donc l'activité spécifique (AS) du produit radiomarqué. L'AS se définit comme le nombre de Becquerel d'un produit radioactif par unité de masse. De façon pratique, plus l'AS est faible, plus la quantité de produit à injecter au patient doit être élevée pour obtenir une image satisfaisante. Elle est donc un facteur limitant dans l'utilisation de certains produits ayant une activité biologique propre (ex : les anticorps).

I.B.2 Les générateurs

I.B.2.a Généralités

Les générateurs sont une alternative à la production *in situ* par un cyclotron hospitalier ou à la livraison quotidienne de précurseurs radioactifs. Le système était appelé historiquement une « vache ». Il fut primitivement développé pour le Tc-99m dès 1954 (9). Le principe repose sur la séparation radiochimique entre l'élément père de période radioactive longue contenu dans le générateur et son fils de période plus courte obtenu par sa désintégration. Le fils est récupéré avec une excellente pureté radionucléidique (c'est-à-dire sans contamination par d'autres radionucléides) et radiochimique (sous la forme chimique intéressante pour le marquage et sans impuretés chimiques et radioactives). Cette séparation est possible car les deux éléments ne sont pas des isotopes et ne possèdent donc pas les mêmes propriétés chimiques. Plusieurs techniques de séparation ont été développées : l'extraction par solvant, l'échange d'ions, l'électrochimie, la sublimation ou encore la chromatographie d'adsorption (10).

Le principe de la technique est la suivante :

- 1) Fabrication du générateur : après production du précurseur dans une centrale nucléaire ou un cyclotron, celui-ci est fixé dans un générateur, généralement sur une colonne d'adsorption. A ce stade, le générateur est livré au service de médecine nucléaire.
- 2) Utilisation en service hospitalier : dans le service, le précurseur contenu dans le générateur se désintègre en son élément fils. Par séparation chimique, seul le radionucléide fils sera récupéré. L'ensemble solvant et radionucléide s'appelle un éluat. La technique de séparation est appelée communément une élution (fig. 4).

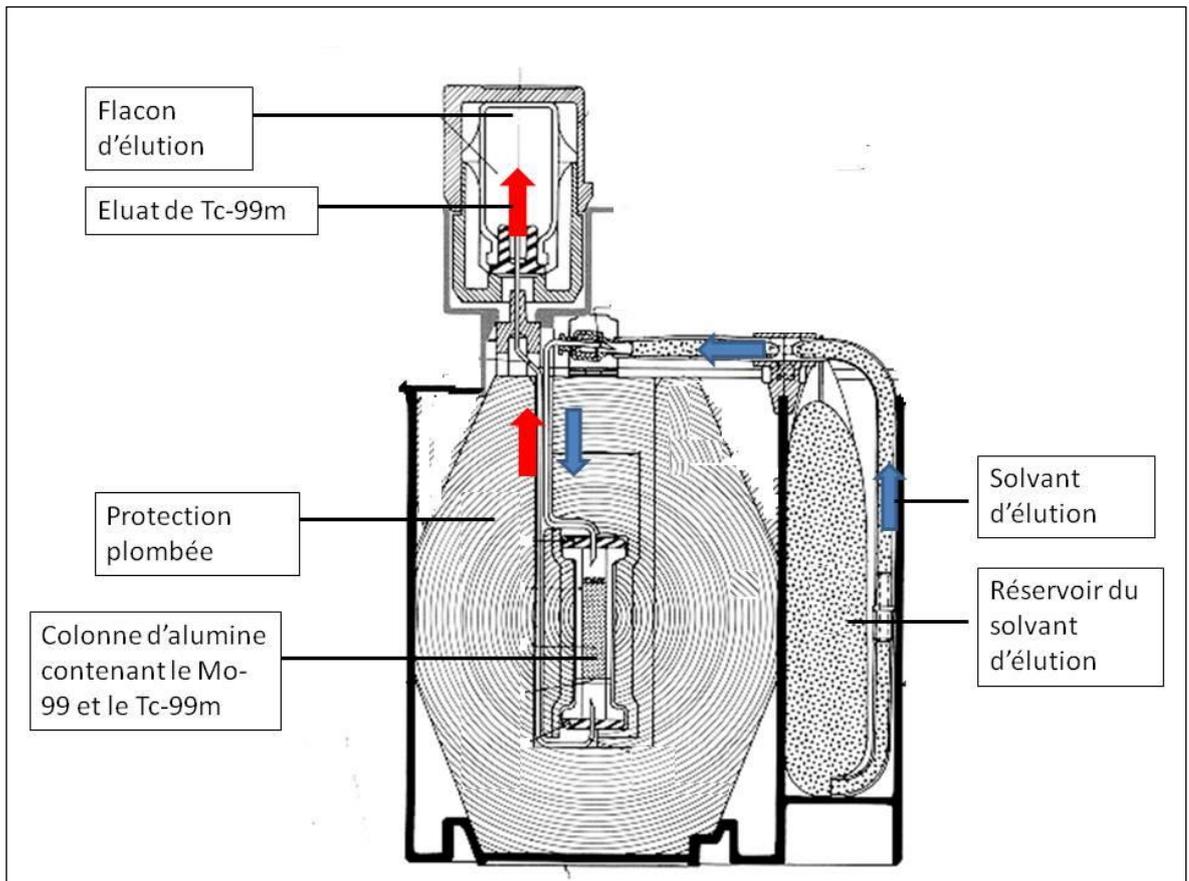


Figure 4. Schéma d'élution d'un générateur ^{99}Mo / $^{99\text{m}}\text{Tc}$

Les générateurs ont des durées de vie extrêmement variables allant de quelques jours à plusieurs mois. La durée de vie dépend uniquement de la période radioactive, de l'activité du précurseur et de sa stabilité de fixation à la colonne. Pour obtenir une activité en radionucléides suffisante pour la production de médicaments et de façon régulière, le couple père / fils doit être en équilibre. Cette propriété de la décroissance radioactive n'existe pas pour tous les radionucléides. Différents couples ont été décrits mais la grande majorité d'entre eux reste à identifier (11).

1.B.2.b Le principe d'équilibre

Le principe de la décroissance d'un élément père (noté 1) en son élément fils (noté 2) est exprimé par :

$$-dN_1/dt = \lambda_1 N_1 \text{ et } N_1 = N_1^0 e^{-\lambda_1 t} \quad [1]$$

où N représente le nombre d'atomes à un temps t . N^0 indique la quantité au temps $t = 0$ et λ est la constante radioactive du radionucléide. La relation liant cette constante à la période radioactive T de décroissance de l'élément est :

$$\lambda = \frac{\text{Ln}(2)}{T} \quad (\text{a})$$

L'élément fils est formé en fonction du taux de décroissance du père, $\lambda_1 N_1$. Cependant, le fils lui-même décroît selon un taux $\lambda_2 N_2$ et la production réelle en élément fils s'exprime donc par :

$$\frac{dN_2}{dt} = \lambda_1 N_1 - \lambda_2 N_2 = \lambda_1 N_1^0 e^{-\lambda_1 t} - \lambda_2 N_2^0 e^{-\lambda_2 t} \quad [2]$$

une solution particulière de cette équation différentielle est :

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_1^0 (e^{-\lambda_1 t} - e^{-\lambda_2 t}) + N_2^0 e^{-\lambda_2 t} \quad [3]$$

Si le précurseur à une période radioactive (T) plus longue que celle de l'élément fils ($T_1 > T_2$, ce qui correspond à $\lambda_1 < \lambda_2$) le facteur $e^{-\lambda_1 t}$ est négligeable devant $e^{-\lambda_2 t}$ ainsi que

$N_2^0 e^{-\lambda_2 t}$ pour un temps t suffisamment grand. L'équation [3] se simplifie :

$$N_2 = \frac{\lambda_1}{\lambda_2 - \lambda_1} N_1^0 e^{-\lambda_1 t} \quad [4]$$

Comme $N_1 = N_1^0 e^{-\lambda_1 t}$, le ratio des nombres d'atomes des deux radionucléides est :

$$\frac{N_1}{N_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_1} \quad [5]$$

Et par conséquent, le ratio des activités A des deux radionucléides devient :

$$\frac{A_1}{A_2} = \frac{\lambda_2 - \lambda_1}{\lambda_2} = 1 - \frac{\lambda_1}{\lambda_2} \quad [6]$$

Dans le cas où la période du père est très grande devant la période du fils ($T_1 \gg T_2$), les équations [5] et [6] se simplifient jusqu'à obtenir $A_1 = A_2$. Dans ce type d'équilibre, l'activité de l'élément fils est égale à celle du père.

Dans ce cas, le temps nécessaire pour obtenir l'activité maximale du fils s'écrit :

$$t = \frac{1}{\lambda_2 - \lambda_1} \ln \frac{\lambda_2}{\lambda_1} \quad [7]$$

Comme le montre l'équation [7], l'équilibre radioactif entre les éléments père et fils est dépendant des constantes de décroissance et donc des périodes radioactives. Lorsque le ratio des périodes du père et du fils est inférieur à 10, on définit l'équilibre comme un équilibre transitoire (cas du générateur Mo-99 ($T = 66$ h) / Tc-99m ($T = 6$ h), Mo-99 pour Molybdène-99). Si ce ratio est plus important, l'équilibre devient alors séculaire et l'activité maximale élue sera obtenue pour un intervalle d'au moins 10 périodes du fils entre deux éluions (cas du générateur Ge-68 ($T = 270$ j) / Ga-68 ($T = 68$ min), Ge-68 pour Germanium-68). Les figures 5 et 6 (Vertes et al, 2010) illustrent ces équilibres par l'exemple du générateur Mo-99 / Tc-99m (fig. 5) et celui du générateur de Ge-68 / Ga-68 (fig. 6)

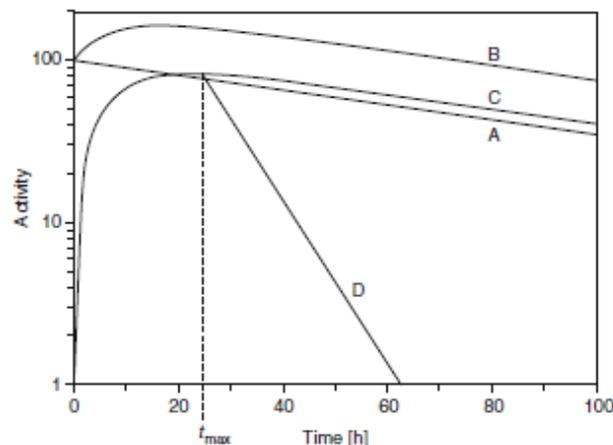


Figure 5. Cinétique de transition pour un générateur Mo-99 / Tc-99m

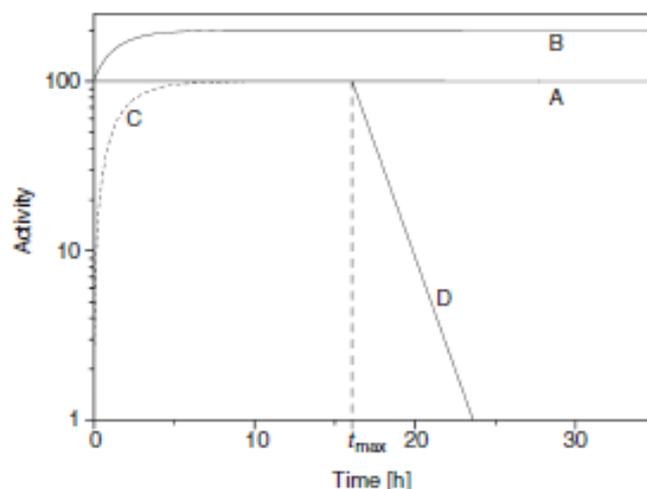


Figure 6. Cinétique séculaire pour un générateur Ge-68 / Ga-68

(A) courbe de décroissance de l'activité du père, (B) courbe de la cinétique des activités cumulées du père et du fils, (C) courbe de l'activité du fils dans la fraction du père et (D) courbe de décroissance de l'activité du fils

Dans l'équilibre séculaire (fig. 6), la période du père est tellement grande devant celle du fils que la cinétique de décroissance de l'activité du père (B) et la courbe des activités cumulées (C) suivent une asymptote ce qui n'est pas le cas dans l'équilibre transitoire (fig. 5). En d'autres termes, le rendement d'élution pour un générateur séculaire est toujours de 100 % de l'activité maximale théorique si l'intervalle minimal entre deux élution est de 10 périodes.

1.B.2.c Les considérations pratiques

En pratique courante, l'activité éluee est rarement identique à l'activité maximale calculée. Cette observation est liée à plusieurs facteurs :

L'intervalle entre deux élutions de 10 périodes est souvent trop long pour une utilisation pratique des générateurs (pour le Ga-68 cela reviendrait à attendre 14,1 h). L'activité à 90 % de l'activité maximale est considérée comme suffisante pour le marquage de molécules. Dans notre exemple, comme le montre la courbe de l'activité du fils (C) de la figure 6, l'intervalle de temps nécessaire pour obtenir 90 % de l'activité maximale en Ga-68 est alors de 3,4 h.

Une élimination préalable du produit de désintégration de l'élément fils est souvent indispensable à toute utilisation de l'éluat. En effet, la période des radionucléides

d'intérêt étant relativement courte, une accumulation de l'élément de désintégration du fils dans le générateur (ex. le Zn-68 pour le Ga-68) est à prévoir si les intervalles d'élution sont supérieures à 10 périodes. Lors du marquage, cet élément de désintégration sera considéré comme un contaminant chimique et peut dans certains cas perturber le marquage. Pour l'éliminer, il est conventionnel de réaliser une première élution de purification du générateur appelée pré-élution. Cette élution diminue le rendement d'élution du générateur et limite son emploi optimal. Nous avons évoqué que la durée de vie d'un générateur était impactée par la stabilité de fixation du précurseur sur la colonne. Au fur et à mesure des éluions, le générateur se dégrade notamment par l'irradiation permanente de l'élément père sur la matrice où il est fixé. Cette détérioration entraîne son décrochage et une diminution non voulue de l'activité restante dans le générateur. Il en découle un écart de plus en plus important entre les activités calculées et mesurées.

Enfin, l'élimination progressive de l'élément père a également pour conséquence une augmentation croissante de sa présence dans l'éluat. L'éluat ne répond plus aux exigences de la Pharmacopée Européenne (PhE) en termes de pureté radionucléidique et ne pourra donc pas être libéré. De plus, l'instabilité chimique provoquée par les solvants d'élution est susceptible d'entraîner une modification de la forme chimique du radionucléide d'intérêt. Ce phénomène diminue le rendement de marquage et donc l'AS.

Pour limiter ce phénomène, réduire les quantités en contaminants et maintenir une AS suffisante, une purification après élution (appelée pré-purification de l'éluat) peut être nécessaire au bout d'un certain temps. Elle garantit la pureté radiochimique de l'éluat (la forme chimique du radionucléide d'intérêt) et sa pureté radionucléidique (le radionucléide d'intérêt).

Malgré ces contraintes, les générateurs sont aujourd'hui indispensables pour la production de radionucléides à période radioactive courte. Leurs avantages sont une autonomie des services ne possédant pas de cyclotron, une durée de vie majoritairement élevée, une pureté radiochimique et radionucléidique maintenue grâce à différents traitements et à la technique de production en elle-même (pas de nécessité d'un

entraîneur). De plus, les générateurs sont simples d'utilisation et entraînent une dosimétrie du personnel acceptable.

1.B.2.d Les générateurs produisant des émetteurs de positons

Plusieurs générateurs produisant des émetteurs de positons sont actuellement commercialisés. En France, leur application reste encore limitée à la recherche. Cependant dans de nombreux pays, les générateur de Strontium-82 / Rubidium-82 et de Ge-68 / Ga-68 sont utilisés en routine. Le tableau 3 présenté page suivante, recense les générateurs potentiellement disponibles pour l'imagerie TEP (correspondance des symboles chimiques avec le tableau périodique des éléments en annexe 1).

Les générateurs sont classés selon la période des émetteurs β^+ . Les émetteurs à période courte (< 1h) seront uniquement disponibles pour la perfusion de l'éluat sans modification préalable, alors que ceux à périodes plus longues pourront marquer des molécules d'intérêt biologique.

La production des émetteurs de positons s'est donc largement diversifiée grâce au développement de cyclotrons proches des centres de médecine nucléaire et de générateurs. Ils ont complètement modifié les pratiques en radiopharmacie. L'accès sans limite à ces isotopes permet à la recherche en radiochimie de prendre aujourd'hui une place de plus en plus marquée dans la pratique hospitalière.

Générateur	Père		Fils		
	Période	Période	Pourcentage de β^+ émis (%)	Energie max. du β^+ (MeV)	Applications
Sr-82 / Rb-82	25,60 j	1,27 min	95	1,41	perfusion
Nd-140 / Pr-140	3,37 j	3,39 min	51	0,544	perfusion
Te -118 / Sb-118	6,00 j	3,60 min	74	0,882	perfusion
Xe-122 / I-122	20,10 h	3,60 min	77	1,09	perfusion
Ba-128 / Cs-128	2,43 j	3,62 min	69	0,869	perfusion
Ce-134 / La-134	3,16 j	6,4 min	63	0,756	perfusion
Zn-67 / Cu-62	9,26 h	9,74 min	97	1,28	marquage et perfusion
Fe-52 / Mn-52m	8,28 j	21,10 min	97	1,13	perfusion
Ge-68 / Ga-68	270,80 j	68,10 min	89	0,74	marquage et perfusion
Sn-110 / In-110m	4,10 h	1,15 h	62	0,623	marquage
Ti-44 / Sc-44	60,3 a	3,93 h	94	0,597	marquage
Se-72 / As-72	8,4 j	1,083 j	88	1,02	marquage

Tableau 3 Générateurs disponibles pour l'imagerie TEP

I.C Les principaux médicaments radiopharmaceutiques

Le concept de médicament radiopharmaceutique a été introduit par G. De Hevesy dans ces travaux sur « l'utilisation d'isotopes comme traceurs dans l'étude des processus chimiques ». Ils lui valurent le prix Nobel de Chimie en 1943 (12). Ce concept décrit l'emploi d'un isotope radioactif marquant une molécule d'intérêt biologique (le vecteur) et produisant ainsi un médicament radiopharmaceutique (appelé le traceur). La majorité de ces médicaments est à visée diagnostique. Ils sont administrés *in vivo* pour étudier une fonction biologique ou caractériser une pathologie. Il est intéressant de noter que les quantités injectées sont infimes, de l'ordre de la nanomole. Les MRP se développent également en thérapeutique. Peu de médicaments étaient jusqu'à présent référencés à la PhE, mais les récents résultats cliniques (13,14) confirment l'intérêt porté pour ces nouveaux traitements.

I.C.1 Le 18F-fluorodéoxyglucose

Le 18F-FDG est un dérivé fluoré du glucose dans lequel une fonction hydroxyle est remplacée par un Fluor (fig. 6).

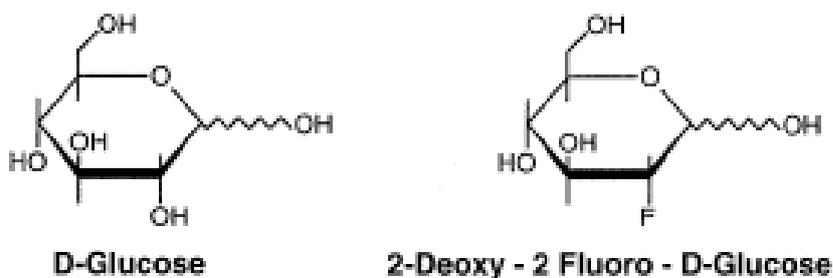


Figure 7. Représentations graphiques du glucose et du FDG

Le 18F-FDG est capté par les cellules grâce au transporteur transmembranaire du glucose GLUT puis subit la 1^{ère} étape du métabolisme du glucose (phosphorylation) qui l'empêche de ressortir de la cellule. La plupart des cellules expriment physiologiquement et de façon importante ces transporteurs. La conséquence principale est un bruit de fond élevé lors de l'examen au 18F-FDG. De plus, une activité musculaire même modérée augmente de façon significative la captation du glucose par les muscles et provoque

également une augmentation du bruit de fond. Pour éviter l'hyperfixation musculaire, le patient doit rester allongé au moins 45 min avec un repos cérébral (sans stimulation lumineuse) avant l'acquisition des images. Les examens au 18F-FDG représentent aujourd'hui plus de 90% du diagnostic par TEP et ses applications sont très variées (15). Nous allons les détailler par spécialité.

1.C.1.a L'oncologie

Une surexpression prépondérante de GLUT-1, GLUT-3 et GLUT-5 a été mise en évidence dans les cellules tumorales. L'augmentation du nombre de transporteurs au niveau de la membrane cellulaire implique une augmentation du métabolisme du glucose. Cette suractivité de la glycolyse par les cellules tumorales, décrite depuis 1930, est le mécanisme principal du 18F-FDG dans le diagnostic en oncologie (16). Les indications du 18F-FDG en oncologie sont nombreuses :

- Caractérisation d'une masse tumorale suspecte : Le 18F-FDG est prescrit en deuxième intention. Il servira uniquement lorsque les autres techniques d'imagerie n'ont pas pu apporter une information claire, que la biopsie de la tumeur n'a pas pu être réalisée ou qu'elle a échoué.
- Stadification de la maladie : le 18F-FDG est surtout utilisé dans ce cas pour le bilan d'extension tumorale et la décision de traitement.
- Surveillance de l'évolution de la maladie sous traitement : à l'instar de certains marqueurs biologiques, l'activité métabolique dans les cellules tumorales diminue si le traitement fonctionne. Aujourd'hui, il est communément admis que le 18F-FDG possède une valeur pronostique sur la réponse au traitement même si la méthode reste qualitative (17).
- Evaluation de l'efficacité du traitement : le 18F-FDG est indiqué après un traitement curatif pour déterminer la présence d'une maladie résiduelle ou évaluer les suites à donner au traitement.
- Contrôle à long terme après rémission de la maladie : dans le cas de cancers agressifs ou pour lesquels le taux de rechute est élevé, le 18F-FDG est indiqué pour le suivi des patients à risques.

Cependant, de nombreux faux positifs à l'examen ont été décrits. Ils sont dus à une suractivité métabolique du glucose dans différents cas physiopathologiques non malins comme dans l'inflammation, dans certaines infections ou dans des cas de tumeurs

bénignes. Inversement, son usage est controversé pour des cancers où l'activité métabolique est faible comme les cancers endocriniens, les carcinomes hépatocellulaires ou le cancer de la prostate et certaines tumeurs du sein ou des poumons (18).

1.C.1.b La neurologie

Les informations données dans l'examen au 18F-FDG sont indirectes car elles reflètent la modification du métabolisme du glucose dans une aire cérébrale explorée en TEP (19). La seule indication donnant lieu à une autorisation de mise sur le marché (AMM) est la mise en évidence des foyers épileptogènes dans l'évaluation préopératoire de l'épilepsie temporale partielle.

1.C.1.c La cardiologie

Le 18F-FDG est indiqué dans l'évaluation de la viabilité cellulaire en dernière intention si les autres techniques d'imagerie ne sont pas concluantes. La technique n'est pas spécifique car physiologiquement, le 18F-FDG se distribue de façon hétérogène dans le muscle. Des traitements préalables sont donc nécessaires pour améliorer la répartition notamment l'apport de dérivés nicotinique ou la perfusion d'insuline. Ces traitements possèdent de nombreux effets secondaires et limitent de ce fait l'indication de cet examen.

1.C.1.d L'inflammation et les infections

L'inflammation représente une réponse immunitaire non spécifique ayant une multitude d'étiologies comme les maladies auto-immunes ou les infections. Le 18F-FDG cible dans ce cas la présence anormale de leucocytes dans un organe ou un tissu. Les indications sont donc extrêmement variées :

- Localisation d'un foyer anormal pour guider le diagnostic étiologique en cas de fièvre d'origine inconnue

Diagnostic d'infection en cas :

- D'infection chronique suspectée de l'os et/ou des structures adjacentes: ostéomyélite, spondylite, discite, ostéite, même en présence d'implants métalliques

- Patient diabétique dont le pied présente une possible neuroarthropathie de Charcot, une ostéomyélite et/ou une infection des tissus mous
- Prothèse de hanche douloureuse ou prothèse vasculaire
- Fièvre chez les patients atteints du SIDA

Le 18F-FDG est indiqué dans la détection de l'extension de l'inflammation en cas de sarcoïdose, maladies inflammatoires intestinales, vascularites impliquant les gros vaisseaux.

Enfin, il possède une AMM pour le suivi de la réponse thérapeutique dans l'échinococcose alvéolaire non résécable, à la recherche de localisation active du parasite, au cours du traitement médical ou après l'interruption de ce dernier.

I.C.2 La 18F-Choline

La choline est le précurseur de la phosphatidylcholine, phospholipide essentiel de la membrane cellulaire eucaryote. Son rôle dans la synthèse membranaire des cellules a permis son utilisation en oncologie dans les cancers du cerveau, du sein, de la prostate ou des poumons. La 18F-Choline (fluorométhyl-diméthyl-2-hydroxyéthyl-ammonium) fut proposée pour remplacer la 11C-Choline dont la courte période (20,4 min) entraîne des difficultés d'acquisition notamment dans le bilan d'extension du cancer de la prostate. La forte fixation de la 18F-Choline au niveau osseux signe un caractère plus agressif de la tumeur. Elle sert de facteur pronostique dans la dissémination métastatique (20). Ce médicament possède une AMM en France dans le diagnostic des métastases osseuses du cancer de la prostate (21). Elle est également employée en deuxième intention dans la recherche d'un carcinome hépatocellulaire avéré ou très probable lorsque l'examen au 18F-FDG n'a pas été concluant ou qu'une intervention est programmée.

I.C.3 La 18F-DOPA

En neurologie, la 18F-DOPA (18F-fluoro-3,4-dihydroxyphénylalanine) cible la synthèse de la dopamine dans les neurones pré-synaptiques du striatum. La diminution de la synthèse augmente avec l'aggravation de la maladie dégénérative. Elle est indiquée dans la détection d'une perte fonctionnelle des terminaisons des neurones dopaminergiques

dans le striatum. Elle est également employée dans le diagnostic de la maladie de Parkinson et la distinction entre le tremblement essentiel et les syndromes parkinsoniens.

En oncologie, elle met en évidence une hypermétabolisation des acides aminés. L'augmentation de son transport au niveau cellulaire et sa décarboxylation signent comme pour le 18F-FDG une maladie maligne. Elle est indiquée dans (22) :

- le diagnostic et la localisation de l'insulinome, des tumeurs glomiques et des phéochromocytomes
- la stadification des phéochromocytomes et des paragangliomes
- la détection de récives ou de maladies résiduelles de tumeurs cérébrales primitives, les cancers médullaires de la thyroïde et les tumeurs carcinoïdes bien différenciés du tube digestif
- le diagnostic des autres tumeurs endocrines (TE) digestives quand la scintigraphie des récepteurs de la somatostatine est négatif

Cette molécule est donc une alternative au 18F-FDG dans des cancers où le métabolisme du glucose reste faible.

I.C.4 La 11C-méthionine

La méthionine est un acide aminé dont le catabolisme est informatif de l'activité cérébrale. Un accroissement de son métabolisme marque la présence d'une tumeur cérébrale. La 11C-méthionine est utilisée en remplacement du 18F-FDG car sa concentration ne varie pas avec la présence d'une zone inflammatoire. Son action est liée à la détérioration de la barrière hémato-encéphalique, l'augmentation de son transport pour la synthèse protéique, et au fait que la méthionine est le premier acide aminé incorporé lors de cette synthèse (23). Aujourd'hui, elle continue à faire l'objet de travaux de recherche. Récemment, sa forte concentration a été corrélée avec une forte agressivité de la tumeur et à un mauvais pronostic (23,24). Sa seule limite reste son mode de production car sa période de 20,4 min oblige le service de médecine nucléaire à être pourvu d'un cyclotron hospitalier.

I.C.5 Le ¹³N-ammonium

Le ¹³N-ammonium est prescrit en cardiologie pour l'étude de la perfusion myocardique. Comme les émetteurs utilisés en TEMP, il est capté par le muscle en 2 temps avec une augmentation linéaire corrélée à l'effort. Ceci permet de diagnostiquer la diminution de la perfusion dans certaines zones du muscle à l'effort puis au repos. Son premier passage dans le muscle myocardique est de 80% et la sensibilité de la technique reste supérieure à celle utilisant les vecteurs technéciés (24).

Ce produit reste cependant marginal car il demande une infrastructure complexe. En effet, sa période de seulement 10 min demande que le cyclotron hospitalier soit à proximité du service et qu'un circuit rapide de distribution du produit soit installé.

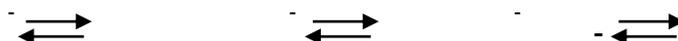
II Le Gallium-68

II.A Propriété physico-chimique du Ga

II.A.1 Propriétés chimiques

Le Gallium est un métal de post-transition du groupe 13. Il a été découvert en 1874 par Lecoq de Boisbaudran grâce à ses deux raies principales situées dans le violet. Il s'agit d'un métal d'aspect argenté fusible, à l'état liquide à température ambiante (température de fusion : 29,8°C). Sa masse atomique est de 69,72 g / mol (25). Le Ga est un élément amphotère. Selon le pH, son comportement sera celui d'un acide ou d'une base.

En solution aqueuse, seul le degré d'oxydation (+III) est stable. Cependant, la forme ionique Ga³⁺ n'est stable qu'en milieu très acide inférieur à pH 3. Aux pH de 3 à 7, le Ga s'hydrolyse sous forme d'hydroxydes de type Ga(OH)₃ insolubles selon la réaction :



$$(K_1 = 2.5 \cdot 10^{-11} \text{ et } K_2 = 6.2 \cdot 10^9) \text{ (26).}$$

En milieu basique, l'hydroxyde de Ga se solubilise formant l'ion gallate $[\text{Ga}(\text{OH})_4]^-$, au sein duquel le gallium n'est pas disponible pour une éventuelle complexation par un ligand.

La chimie de coordination du gallium présente beaucoup de similitudes avec celle de l'indium. Le Ga^{3+} est un acide fort de Lewis du fait de son faible rayon ionique et de sa forte charge. Son caractère acide de l'état d'oxydation (+III) conduit le centre métallique à se coordonner avec des espèces donneuses riches en électrons : ligands contenant des donneurs azotés, oxygénés ou soufrés tels que les groupements carboxylates, phosphonates, hydroxamates, amines, thiolates ou phénolates (27). Le gallium forme avec ces molécules des complexes dans lequel le métal présente le plus souvent la coordinence de 6 et plus rarement de 4 ou de 5 (28).

II.A.2 Propriétés physiques

Il existe plusieurs radio-isotopes du Ga mais seulement deux ont déjà été décrit en clinique : le Ga-67 et le Ga-68. Les caractéristiques de ces deux émetteurs sont détaillées dans le tableau 4.

Le Ga-67 est un émetteur photonique utilisé en TEMP sous la forme de citrate dans la détection de sites tumoraux primaires ou de métastases et dans la recherche de foyers infectieux (29). Il tombe cependant en désuétude au profit de nouveaux marqueurs émetteur de positon comme le F-18 ou le Ga-68.

Le Ga-68 est un émetteur de positons émettant une particule β^+ à plus de 89%. L'énergie maximale du β^+ est de 1899 keV et son parcours moyen est de 2,4 mm (en comparaison celui du F-18 est de 0,5 mm). Le Ga-68 émet également dans 3,22% des cas un photon γ de haute énergie (1077 keV) (7). Il décroît en Zn-68 qui est un élément stable (fig. 8).

Radio-isotope	Mode de décroissance	Période	Principaux photons γ	Energie maximale du β^+
Ga-67	Capture électronique (CE) ; γ	78,1 h	93,3 keV (38,6%) 184,6 keV (20,8%)	-

			300,2 keV (16,0%)	
			393,0 keV (4,2%)	
Ga-68	β^+ , γ	67,71 min	511 keV 1077 keV (3,22%)	1899 keV

Tableau 4. Caractéristiques principales des radio-isotopes du Ga

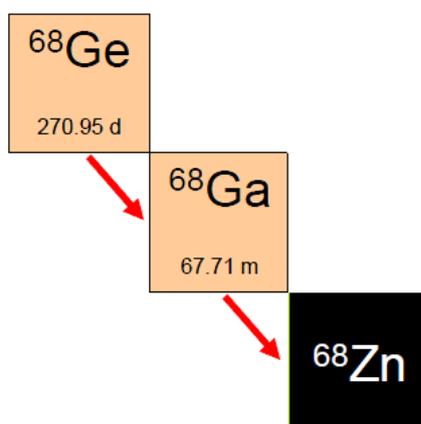


Figure 8. Schéma de filiation du Ga-68

II.B Production de l'élément père : le Germanium-68

Le Ge-68, père du Ga-68, est produit par cyclotron pour la fabrication du générateur. Plusieurs méthodes de production du Ge-68 ont été décrites. Elles sont présentées dans le tableau 5 (30).

Particule	Réaction nucléaire	Nucléides de la cible
Proton	(p, 2n)	Ga-69
Proton	(p, xn) x = 2, 4	Ga naturel (Ga-69, -71)
Proton	(p, pxn)	Ge naturel
Proton	(p, xnyp) y = 2, 4, 6	As-71 ; Br-79, -81 ; Rb-85, -87
Deutéron	(d, 3n)	Ga-69
Hélium-4	(α , 2n)	Zn-66

Hélium-3	$(^3\text{He}, xn) x = 1, 2, 3$	Zn-66, -67, -68
----------	---------------------------------	-----------------

Tableau 5. Principales réactions pour la production de Ge-68

Toutes ces techniques ont fait l'objet de nombreuses comparaisons en termes de rendement de production, d'optimisation des cibles et des procédures de bombardement. En effet, comme nous l'avons vu succinctement la nature et la pureté isotopique de la cible, son épaisseur et sa forme ont un impact sur le rendement de collision et de production de l'élément d'intérêt (8).

II.B.1 Les radionucléides d'intérêt

Les cibles contenant du Ge naturel, du Ga-69, du Ga naturel et du Zn ont été les plus étudiées (30). Historiquement le premier proposé fut le Zn. Il n'a pas été retenu car le protocole de transformation nécessite un bombardement par un flux de particules α (31). Ces particules très énergétiques sont rapidement arrêtées par l'épaisseur de la cible. De ce fait, le nombre de réactions de transformation est faible et le rendement de production reste modéré. L'irradiation par un flux de proton sera préférée car elle permet au contraire une plus grande pénétration dans la cible et une augmentation du nombre de réactions par unité de surface. Les cibles sont constituées soit de Ge, soit de Ga. Le mélange de différents isotopes stables du Ge naturel a pour intérêt une meilleure solidité de l'alliage lors d'un bombardement à haute énergie. Cependant, l'AS du Ge-68 est faible, diminuant le rendement réel de production après extraction de la cible. En comparaison, les cibles de Ga donnent de bons résultats car elles produisent un produit fini très pur. L'activité de Ge-68 créée dans ses cibles par unité de temps d'irradiation est donc la plus élevée (fig. 9, (32)).

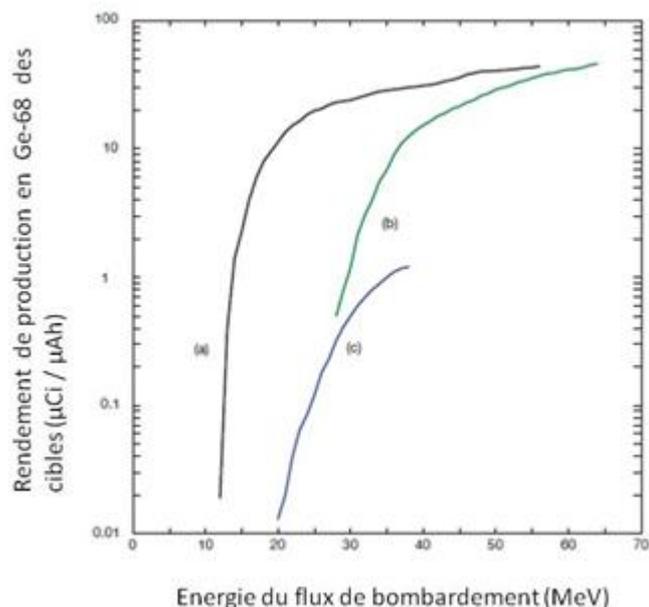


Figure 9. Rendement de production du Ge-68 en fonction de l'énergie.

La courbe (a) représente le rendement de production pour les réactions Ga (p, xn) Ge-68, la courbe (b) celui des réactions Ge (p, pxn) Ge-68 et la courbe (c) le rendement de production des cibles de Zn selon la réaction Zn (α , xn) Ge-68

D'après la courbe, pour une même énergie les cibles de Ga permettent de produire une activité de Ge-68 plus importante que les autres cibles. Depuis 2001, le protocole Ga (p,xn) Ge-68 pour la production de générateur à visée médicale a été validé par l'Agence Internationale à l'Energie Atomique (IAEA) (33).

II.B.2 Les cibles de Ga

Il existe différentes formes chimiques du Ga possibles pour la fabrication des cibles. Elles pourront être en trioxyde de di-Gallium (Ga_2O_3) ou en Ga métal. Dans ce cas, le Ga sera encapsulé dans le Nibium (Nb) ou l'Aluminium (Al) ou sera mélangé sous la forme d'un alliage (GaNi ou GaAg). L'encapsulation est indispensable pour éviter l'évaporation du Ga métal provoqué par la chaleur lors de l'irradiation. Dans le cas de l'oxyde de Ga, elle l'empêche de corroder les parties métalliques et d'induire des contaminants. Récemment, de nouvelles cibles en dioxyde de Gallium GaO_2 ont été proposées, mélange de Ga_2O_3 et de Ga métal (34,35). Elles ont l'avantage d'être inertes face aux métaux et de supporter des très fortes températures.

II.B.3 Les cyclotrons produisant du Ge-68

Seuls quelques accélérateurs dans le monde ont la capacité de produire du Ge-68 (36). En effet, pour obtenir une activité de Ge-68 de l'ordre de 37 GBq, les intensités des flux de protons doivent être élevées allant de 40 μA à 100 μA . De plus, une période d'irradiation de plusieurs jours est obligatoire. Les cyclotrons remplissant ses conditions sont : le cyclotron d'Obninsk en Russie, le cyclotron IThemba en Afrique du Sud, les laboratoires nationaux de Brookhaven et de Los Alamos aux Etats-Unis, l'Institut de Physique Nucléaire au Kazakhstan, l'Institut de Recherche Nucléaire de Moscou en Russie et le cyclotron d'Orsay en France. Les cyclotrons produisant de façon routinière du Ge-68 et les caractéristiques principales de leurs méthodes de production sont résumés dans le tableau 6 (issu des données de l'IAEA, 2010).

Sites	cible		Paramètres d'irradiation			Activité produite	
	nature	Energie (MeV)	Temps (h)	Intensité (μA)	Activité (GBq)	Rendement (GBq / Ah)	Pureté (%)
Obninsk (37)	Ga ₄ Ni ou Cu	23	180				99,8
IThemba (38)	Ga dans Nb	36			16,6		99,9
	Ga ₂ O dans Al	2 - 34		65		55,8	
Brookhaven (39)	Ga dans Nb	30	640	85	33 - 51		99,9
Los Alamos (40)	Ga dans Nb	60	492	125	70	118,4	99,9

Tableau 6. Caractéristiques de production du Ge-68 pour les principaux cyclotrons

II.B.4 Les traitements chimiques des cibles

Les différents protocoles de traitements ont été décrits par Mirzadeh et al en 1996 (41). La méthode principale d'extraction est un traitement en acide concentré pour dissoudre la cible suivi d'extractions liquide - liquide successives en CCl₄ en présence de

peroxyde d'hydrogène ou d'acide chlorhydrique. Le Ge est extrait sous la forme GeCl_4 . Puis un passage en milieu aqueux faiblement acide permet son conditionnement sous sa forme d'intérêt. Au laboratoire de Brookhaven, le Ge-68 est extrait sous la forme de DTPA et doit subir un traitement supplémentaire avant son utilisation.

II.B.5 La pureté du Ge-68 produit

Historiquement, les centres de recherche produisaient de faibles quantités de Ge-68 à partir de cyclotron *in situ*. Ainsi en 1981, Schuhmacher et al créaient une faible quantité de Ge-68 (3,7 kBq) à partir d'une cible de $^{69}\text{Ga}_2(\text{SO}_4)_3$ par bombardement de flux protonique de 20 MeV (42). Durant cette expérience, ils produisent également du Mn-54, Co-57, Zn-65.

La présence de réactions parasites est un des points critiques de la production de Ge-68. Ces impuretés sont nombreuses et dépendantes de la technique de production et du type de cible. Le Nb ou l'Al d'encapsulation produisent des contaminants radionucléidiques à périodes longues, l'Y-88 et le Zr-88. Lors d'une irradiation à forte énergie, du Zn-65, Co-57, Co-58 à période longue ainsi que du Ge-69 et du Ga-67 de périodes courtes sont créés. Pour éliminer les éléments de périodes courtes, les cibles sont laissées en décroissance durant 2 semaines avant leur traitement. Les extractions successives permettent ensuite de purifier le Ge-68.

Cependant, la pureté du Ge-68 ne tient pas compte de la présence de Ge-71 qui est produit par la réaction $^{71}\text{Ga} (p, xn) ^{71}\text{Ge}$. Le Ga-71 est un des isotopes du Ga retrouvé à plus de 30% naturellement dans le Ga métal utilisé pour la fabrication des cibles.

La séparation sans entraîneur ne permet pas d'isoler complètement le Ge-68. Du Ga naturel ainsi que d'autres contaminants chimiques sont entraînés lors de la purification. Ces contaminants sont issus des matériaux utilisés. Le principal élément est le Fe mais des traces de Nb, Cu, Pb, Co, Cr, Cd, Ni, Mn et Al ont pu être dosées par des méthodes sophistiquées de détection. Elles devront être éliminées directement lors de l'élution du générateur pour empêcher toute compétition lors du marquage d'un MRP au Ga-68.

II.C Les chélatants bifonctionnels

Le marquage du vecteur par le Ga-68 demande la présence d'un chélatant qui complexe le métal et reste lié à la molécule *in vivo*. Du fait de ce double rôle, les chélatants sont dits bifonctionnels. Un bon chélatant bifonctionnel doit :

- avoir une stabilité de marquage et une inertie vis-à-vis des molécules *in vivo*,
- une cinétique de complexation rapide surtout pour les radionucléides à période courte,
- être sélectif pour le métal à complexer afin d'obtenir une haute AS,
- avoir une chimie de conjugaison souple, c'est-à-dire ayant une flexibilité dans les conditions de conjugaison pour différents vecteurs,
- être accessible et donc peu coûteux, simple à mettre en œuvre et surtout productible à l'échelle industrielle.

Les chélatants ne peuvent cependant pas remplir toutes ces conditions. Principalement, l'élaboration de MRP marqués au Ga-68 devra tenir compte de la similitude de comportement chimique entre le Ga et le Fe (même charge et rayon ionique similaire). En effet, la plupart des molécules chélatants le Ga sont susceptibles de fixer également le Fe. Cette caractéristique est à l'origine de la démétallation souvent observée lors de l'administration des complexes de Ga de faible constante de stabilité (43). La mise au point de nouveaux chélatants bifonctionnels du Ga s'est donc orientée vers la préparation d'espèces possédant une stabilité thermodynamique vis-à-vis des réactions de décomplexation dues essentiellement à la transferrine, molécule la plus souvent incriminée dans ce processus. De ce fait, la transferrine a longtemps servi de référence pour comparer les chélatants entre eux. Aujourd'hui, de nouveaux chélatants de synthèse l'ont remplacée. En imagerie, cette affinité du Ga pour la transferrine explique la forte fixation du Ga au niveau pulmonaire, hépatique et osseuse.

D'autre part, les chélatants ne sont pas inertes. Ils modifient les caractéristiques chimiques du vecteur et donc ses paramètres pharmacodynamiques *in vivo*. Leur taille et leur charge peuvent modifier l'affinité d'un ligand pour son récepteur ; leur lipophilie perturbe l'élimination des MRP.

Aujourd'hui, la grande majorité des vecteurs sont conjugués avec des chélatants bifonctionnels macrocycliques mais une autre approche concerne le développement de molécules acycliques plus facile à manipuler.

II.C.1 La notion de stabilité

La stabilité des complexes est une grandeur thermodynamique notée K_s qui reflète les équilibres chimiques des espèces en solution qui font partie du système de complexation (44). Seuls les équilibres mettant en jeu la réaction de complexation en elle-même sont pris en compte. Pour la réaction de complexation :



La constante d'équilibre s'écrit $K_s = \frac{[\text{Ga}(\text{L})_x]}{(\text{Ga}^{3+})(\text{L})^x}$ (1)

Cependant, cette expression de l'équilibre n'est qu'une partie de la réalité. Les ligands (L) sont des bases de Lewis et à ce titre, elles sont en permanence susceptibles de se protoner ou de se déprotoner (comme $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{SH}\dots$) en solution aqueuse :



La constante d'équilibre s'écrit $\text{pKa} = -\log K_a$ où $K_a = \frac{\text{L}^- (\text{H}^+)}{(\text{LH})}$ (2)

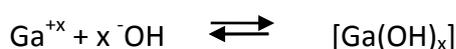
La réaction de protonation d'un ligand est en compétition avec celle de complexation. Il faut donc intégrer les équilibres (1) et (2) pour refléter la réalité des équilibres en solution aqueuse. Elle conduit à une définition plus complète de la stabilité d'un complexe.

Elle s'écrit $\text{pM} = -\log[\text{M}]$ (3)

Où (M) reflète la concentration résiduelle de l'ion métallique libre après complexation dans un milieu donné (ici à pH physiologique et pour une concentration en métal total

fixée). Cette grandeur intègre donc la constante de stabilité du complexe ainsi que les pKa des ligands, c'est à dire leur tendance à la protonation. Elle permet de comparer directement l'affinité de différents ligands vis-à-vis des métaux, en s'affranchissant du nombre de groupes donneurs présents sur le ligand ainsi que de leur pKa. Plus la valeur de pM est élevée, plus le ligand est affin (28).

A noter également qu'en milieu aqueux pour un pH physiologique, la réaction de complexation est aussi en concurrence avec la réaction d'hydrolyse des cations métalliques. Les hydroxydes métalliques sont très peu solubles dans l'eau.



La valeur de pM intègre l'équilibre de la réaction d'hydrolyse puisque pour le calculer, il faut tenir compte de l'ensemble des équilibres chimiques où le métal est présent.

La stabilité d'un chélatant n'est pas l'unique problème à considérer lors de la complexation. En effet, malgré une stabilité moyenne, certains chélatants ont une cinétique de complexation et de décomplexation lente. Il s'agit de la notion d'inertie cinétique. Plus l'inertie cinétique est élevée, plus le marquage sera lent. Des techniques de chauffage permettent d'améliorer la vitesse de réaction (45,46). Récemment, une technique en condition anhydre a également été décrite (47). Cette notion est importante à prendre en considération quand le vecteur est thermolabile car dans ce cas, certains chélatants ne pourront pas être utilisés.

Inversement, le choix d'un chélatant ayant une stabilité modérée mais une inertie cinétique élevée sera parfois suffisante *in vivo* si la biodistribution du vecteur est plus rapide que la décomplexation du métal. Dans ce cas, le MRP sera utilisable pour l'imagerie.

II.C.2 Les chélatants macrocycliques

Les poly-aza-macrocycles font partie des plus étudiés à l'heure actuelle. Issu du 1,4,7-triazacyclononane (TACN) et des cyclènes, ces dérivés ont une très bonne inertie cinétique et limitent les phénomènes de transchélation ou de démétallation *in vivo*. Pour augmenter leur affinité pour le Ga, des atomes donneurs ont été additionnés sur des bras

greffés aux amines secondaires. Leur rôle est de saturer la coordination du Ga à 6 pour stabiliser le marquage.

II.C.2.a L'acide 1,4,7,10-tétraazacyclododécane-N,N',N'',N'''-tétraacétique (DOTA)

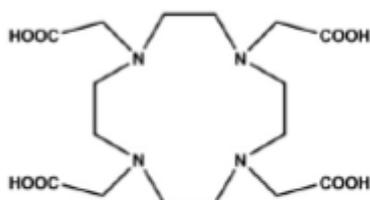


Figure 10. Représentation schématique du DOTA

Le DOTA est le plus commun des chélatants du Ga (48). La plupart des vecteurs en essais sont conjugués au DOTA (fig. 10) (49,50). Son principal intérêt est la présence de 4 bras carboxyliques dont seulement 2 serviront à la complexation du Ga en association avec le corps N₄ (51). Le troisième est déprotoné alors que le quatrième servira à la fonctionnalisation du vecteur. La molécule est donc négative à pH physiologique.

Malgré une stabilité modérée ($pGa = 15,2$) plus faible que celle de la transferrine ($pGa = 19,7$) (43), il possède une grande inertie cinétique. La réaction de complexation du DOTA sera donc lente. Les protocoles de complexation demandent de chauffer le mélange à 100°C. Ceci limite de son utilisation à des molécules thermorésistantes (52).

II.C.2.b L'acide 1,4,7-triazacyclononane-N,N',N''-triacétique (NOTA)

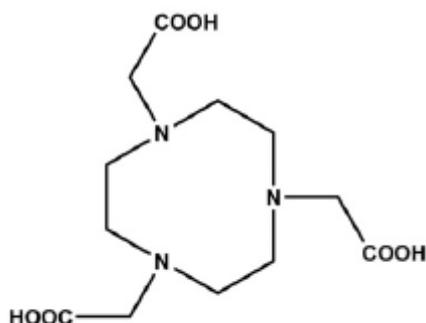


Figure 11. Représentation schématique du NOTA

Le NOTA possède une grande stabilité thermodynamique liée à la taille du cycle, plus petite que celle du DOTA et adaptée au diamètre de l'atome de gallium. Malgré son inertie cinétique, la réaction de complexation avec le Ga serait réalisable à température ambiante (53). Le pGa du NOTA est de 26,4 ce qui est favorable par rapport à celui de la transferrine (48). La configuration pseudo-octaédrique du NOTA lui confère une charge neutre à pH physiologique. Dans cette configuration, aucun des bras carboxyliques du NOTA n'est disponible pour la fonctionnalisation. Lors de sa liaison avec un vecteur, la stabilité est compromise car la coordination de 6 du Ga³⁺ n'est plus possible. De plus, la molécule prend une charge positive qui peut modifier les propriétés biologiques du vecteur. Actuellement, pour palier à ce problème, de nombreux dérivés du NOTA sont en cours d'étude (53–55).

II.C.3 Les chélatants acycliques : exemple de l'acide N,N'-bis[2-hydroxy-5-(carboxyéthyl)benzyl]éthylènediamine-N,N'-diacétique (HBED-CC)

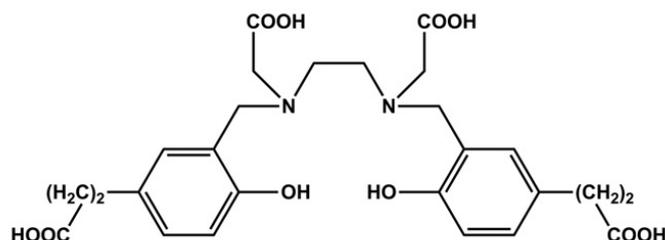


Figure 12. Représentation schématique de l'HBED-CC

L'HBED est un dérivé de l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA). Il s'agit d'un chélatant acyclique décrit dans les années 60 et ayant pris un regain d'intérêt ces dernières années (56,57). Sa constante de stabilité pGa est de 28,3. Depuis les années 90, son dérivé bifonctionnel HBED-CC est utilisé notamment pour le marquage d'anticorps, trop sensible à la chaleur pour l'utilisation du DOTA (58). Il est caractérisé par une réaction de complexation rapide avec un très bon rendement (59). Il a récemment été comparé au NOTA (60). Dans cette étude, le marquage du Ga-68 a été réalisé à température ambiante avec un pH de 4,2. L'HBED complexe le Ga en 4 min avec un rendement de 98,7 % alors que pour le même temps, seulement 50 % des NOTA sont marqués. Sa stabilité dans le sérum humain est comparable à celle du NOTA. Il paraît donc être une alternative de choix aux chélatants macrocycliques pour le marquage de molécules thermolabiles.

II.D Les analogues de la somatostatine marqués au Ga-68

Peu de médicaments marqués au Ga-68 sont actuellement utilisés en clinique. La majorité d'entre eux sont des analogues de la somatostatine ciblant ses récepteurs et indiqués dans le diagnostic des TE.

II.D.1 Le contexte

II.D.1.a Les tumeurs endocrines

Les TE sont considérées comme des tumeurs rares même si aujourd’hui leur prévalence est de 5,25 / 100 000 au lieu de 1 / 100 000 habitants par an en 2000 (61,62). Ces tumeurs sont originaires des cellules de la crête neurale et se développent dans tout l’organisme. Selon le siège, elles sont associées à une forme métastatique dans 3 à 50 % des cas. Une sécrétion hormonale est décrite dans 33 – 50% des cas (63). Les TE produisent une variété importante de substances issues du stockage et la décarboxylation intracellulaire des amines précurseurs. Grâce à leurs enzymes de décarboxylation, elles produisent des dérivés de la DOPA et de l’hydroxyl-tryptophane. Ce mécanisme sera la cible de 18F-DOPA en imagerie TEP. Une des caractéristiques principales des TE est l’expression de certains récepteurs en quantité importante notamment les récepteurs de la somatostatine.

II.D.1.b Les récepteurs de la somatostatine

La somatostatine est un peptide régulateur sécrété de façon physiologique par de nombreux systèmes neuro-endocriniens comme le tractus gastro-intestinal ou la thyroïde. L’action de la somatostatine est médiée par l’expression de récepteurs spécifiques au niveau de ces tissus. Il a été décrit cinq sous-types de ces récepteurs (SSTR) (64). Une forte densité de ces récepteurs a été découverte pour les TE avec une prédominance du SSTR-2. Cependant, leur expression reste variable et dépendante du type tumoral. Une forte expression est retrouvée dans les TE gastro-entéro-pancréatique alors qu’elle est faible dans les carcinomes médullaire de la thyroïde (65).

II.D.1.c Place de la TEP dans l’exploration des TE

Le niveau d’agressivité des TE dépend de leur siège. Au-delà des bilans réalisés lors du diagnostic, une recherche d’extensions métastatiques est également menée. Le scanner est de loin la technique la plus utilisée pour cette indication car elle permet d’obtenir une description qualitative indispensable à la décision thérapeutique. La TEMP est indiquée dans le cas où la tumeur exprime des récepteurs à la somatostatine. Elle utilise un analogue de la somatostatine, le pentétréotide marqué à l’In-111. Elle permet la détection et la visualisation de la tumeur primaire, de la graduer, de suivre les

réurrences du cancer et de sélectionner les patients pour lesquels un traitement par octréotide ou radiothérapie interne vectorisée est possible (66).

Sur le même principe et avec l'avènement de la TEP, des analogues de la somatostatine marqués au Ga-68 ont été proposés. Par rapport au pentétréotide marqué à l'In-111, ils montrent un gain de sensibilité lié à la technique, une diminution du temps d'acquisition et la possibilité de réaliser une analyse semi-quantitative.

II.D.2 Les différents analogues

II.D.2.a Le [68Ga-DOTA, Tyr³]-octréotide (DOTA-TOC)

Le DOTA-TOC fut le premier peptide marqué au Ga-68 utilisé en clinique. Il possède une affinité importante pour les SSRT2 et 5. Les études ont permis de démontrer sa supériorité par rapport au pentétréotide marqué à l'In-111 et au scanner (50,67,68). Dans l'étude de Gabriel et al, sur les 84 patients ayant une TE, la détection de lésions est 97 % des cas pour le DOTA-TOC alors qu'elle est de 61 % pour le scanner et de seulement 52 % pour la TEMP (69). De même, une autre publication montre une amélioration dans la localisation des lésions osseuses secondaires par rapport au scanner ou à la scintigraphie osseuse (70). Plus récemment, le DOTA-TOC a été comparé à la 123I-méta-iodobenzylguanidine (123I-MIBG) dans les phéochromocytomes (six patients) et les neuroblastomes (cinq patients). Bien que les deux techniques montrent une sensibilité similaire par rapport à l'imagerie conventionnelle, le DOTA-TOC détecte plus de lésions que la 123I-MIBG. Pour l'ensemble de la cohorte, il identifie 216 lésions au lieu de 184 pour la 123I-MIBG (71). Enfin, très récemment, un premier essai de TEP / IRM chez un patient souffrant d'un méningiome a permis de montrer la supériorité de cette technique hybride par rapport à l'imagerie par DOTA-TOC suivie d'une IRM sur l'évaluation de la taille de la tumeur (72).

II.D.2.b Le [68Ga-DOTA, 1-NaI³]-octréotide (DOTA-NOC)

Le DOTA-NOC est également de plus en plus utilisé en clinique. Il possède une affinité pour le SSRT 2 et 5 ainsi que pour le SSRT 3 (73). Comme pour le DOTA-TOC, de nombreuses études ont montré sa supériorité aux autres techniques d'imagerie (74,75). Son impact clinique a surtout été mis en avant dans les tumeurs dont le site primaire est inconnu comme apport dans l'évaluation pronostique de la maladie. L'équipe de

Valentina Ambrosini a récemment publié une étude rétrospective de 1239 patients évaluant le DOTA-NOC (76). Sur la totalité des patients, 1127 avaient un diagnostic de TE confirmé par chirurgie ou biopsie. Cent douze ne possédaient aucune tumeur identifiée. Les indications du DOTA-NOC étaient la gradation de la tumeur, la gradation post-traitement, l'identification du site primaire, l'éligibilité pour les traitements par des analogues de la somatostatine, la levée des diagnostics équivoques et le suivi. La sensibilité de la technique a été évaluée à 92 % et sa spécificité à 98 %. Neuf patients ont présentés des faux-positifs. La majorité était liée à la présence de lymphocytes activés dans une zone inflammatoire. Cinquante quatre patients ont été considérés comme des faux négatifs. Les causes principales étaient la présence d'une lésion inférieure à 5 mm ou exprimant peu de SSRT, des lésions situées dans des sites où le DOTA-NOC se fixe de façon physiologique comme l'incinatus du pancréas (77). La plupart des patients qui ne présentait pas de fixation a pu être confirmée comme des vrais-négatifs (80 sur 88 patients).

II.D.2.c Le [68Ga-DOA, Tyr³, Thr⁸]-octréotide (DOA-TATE)

Le DOA-TATE est caractérisé par une très haute affinité pour le SSRT 2 (78). Il est cependant moins utilisé en clinique. Comme pour les précédents analogues, il montre une supériorité de détection par rapport au penteréotide marqué à l'In-111 (79). Récemment, il a également été comparé à l'123I-MIBG et montre des résultats similaires au DOA-TOC (80). Dans le cancer de la prostate, il montre un intérêt dans le suivi des patients après une hormonothérapie (81). Enfin, une étude propose son utilisation dans l'évaluation dosimétrique préalable à une thérapie interne vectorisée au DOA-TATE marqué au Lu-177 (82).

II.D.2.d Le [68Ga-DOA-2-NAI, Tyr³, ThrNH₂⁸]-octréotide (DOA-LAN)

Actuellement une seule étude de 11 patients a été proposée par Traub-Weidinger et al (83). Le DOA-LAN a été comparé au scanner et à l'IRM. Pour 5 patients, les résultats ont également été confrontés au 18F-FDG. Les conclusions sont mitigées. Malgré des patients ayant des tumeurs positives pour les SSRT, de nombreuses lésions métastatiques n'ont pas été visualisées. D'autre part, sa lipophilie augmente son temps d'élimination par

rapport au DOTA-TOC ce qui augmente le bruit de fond. Une concordance parfaite a toutefois été retrouvée avec le scanner sur les tumeurs primaires pulmonaires.

II.D.3 La biodistribution et la dosimétrie

II.D.3.a La biodistribution

Les analogues de la somatostatine sont rapidement éliminés du sang circulant. Leur excrétion uniquement réalisée par les reins suit un modèle bi-exponentiel et est complète en 4 h. L'activité maximale à la tumeur est observée à 70 min. La fixation physiologique des analogues est liée à l'expression des SSTR par de nombreux organes et glandes comme le foie, les reins, la rate, le pancréas, la thyroïde, l'estomac, les intestins, l'hypophyse, les glandes salivaires et surrénales. Cette fixation entraîne un bruit de fond lors de l'acquisition des images (84).

II.D.3.b La dosimétrie

A l'heure actuelle, très peu d'études de biodistribution et de mesure des doses reçues aux différents organes ont été publiées. Deux équipes ont proposé une évaluation dosimétrique des analogues de la somatostatine marqués au Ga-68. Il s'agit de l'étude sur le DOTA-NOC faite par Pettinato et al en 2008 et celle sur le DOTA-TOC réalisée par Hartmann et al en 2009 (85,86). En 2006, dans le cadre d'une étude comparative entre le DOTA-TOC et le 18F-FDG, Koukouraki et al présente une estimation des doses reçues par leurs patients grâce à un modèle cinétique bi-compartimentale mais aucune mesure dosimétrique n'a été réalisée (87).

La méthode d'estimation des doses repose sur la détermination expérimentale de l'activité cumulée pour les reins, la vessie, le foie, la rate et la l'hypophyse puis sur un calcul de la dose absorbée par chaque organe grâce au logiciel OLINDA. Les résultats obtenus sont comparés aux données de la littérature pour les analogues de la somatostatine marqués l'In-111.

Les résultats montrent que la dose équivalente la plus importante est prise par la vessie. Ils concluent à une dose effective plus faible pour les 68Ga-DOTA-peptides que pour le pentétréotide marqué à l'In-111, l'octréotide-DTPA-In-111 ou le 18F-FDG.

Une première revue de la littérature parut en 2012 par Eberlein et al pondère ces résultats (88). Les auteurs confirment la diminution de doses reçues lors de l'utilisation

des analogues de la somatostatine mais sont critiques vis-à-vis de la méthode. En effet, OLINDA utilise des représentations schématiques et normalisées des organes étudiés. Cette technique montre un biais de mesure lié à la masse attribuée à chaque organe et à la délimitation de celui-ci durant l'acquisition. De plus, la dose effective qui compare les MRP entre eux, ne permet pas de conclure sur la dose réellement reçue par le patient. Ils proposent de définir un modèle pharmacocinétique unique pour mener des études complètes de dosimétrie en se basant sur le guide proposé par l'Association Européenne de Médecine Nucléaire (EANM) publié en 2011 (89).

II.D.4 La place des analogues dans le diagnostic des TE

Les analogues de la somatostatine marqués au Ga-68 montrent indéniablement leur supériorité par rapport aux analogues marqués par des émetteurs photoniques. L'explication majeure est que la TEP est une technique beaucoup plus sensible que la TEMP. De plus, les caractéristiques physiques des émetteurs de positon entraînent un meilleur rapport signal / bruit de fond que les émetteur γ . Tous ces arguments sont en faveur de l'utilisation de ces médicaments dans le diagnostic des TE.

Aujourd'hui, ils sont comparés avec les autres médicaments de TEP utilisés dans les mêmes indications. Cette approche est plus intéressante car la technique d'imagerie n'est pas prise en compte et le seul facteur est l'action du médicament. Plusieurs études récentes les confrontent à la ^{18}F -DOPA et au ^{18}F -FDG (65,90–93). Elles confirment la meilleure sensibilité des analogues marqués au Ga-68 dans la détection des lésions pour les TE gastro-entéro-pancréatiques bien différenciées. Cependant, dans le cas des carcinomes médullaires de la thyroïde, la F-DOPA reste supérieure aux DOTA-peptides. Cette observation s'explique par le phénotype de la tumeur. Elle exprime peu de SSRT ce qui limite l'action des analogues de la somatostatine. Les tumeurs peu différenciées dont les caractéristiques sont peu spécifiques montrent une meilleure réponse au ^{18}F -FDG.

Il est également important de souligner que selon la localisation du site primaire, la biodistribution physiologique des médicaments va jouer un rôle majeur dans la sensibilité de détection. Si le produit est distribué de façon préférentielle sur un site proche de la tumeur, celle-ci sera difficilement observable.

D'autre part, tous les analogues ne sont aujourd'hui pas accessibles de la même manière en Europe. Selon les législations et les autorisations, certains ne pourront pas être utilisés (94).

Pour conclure, il est intéressant de se poser la question de la valeur diagnostique et pronostique de la multiplication des lésions découvertes. En effet, la classification des TE et leur gradation suit les recommandations de l'OMS et la classification TNM (95). Elle se base donc sur la taille de la tumeur, le nombre de nodules et la présence de métastases. Est-il vraiment nécessaire d'établir une liste exhaustive des lésions secondaires chez un même patient quand celles-ci dépassent 3 lésions ? Plusieurs études tendent à prouver que la prise en charge du patient sera effectivement modulée selon les résultats apportés par les analogues marqués au Ga-68 (52, 65). Cette question n'est cependant pas encore clairement élucidée et devra faire l'objet d'autres investigations.

II.E Les autres médicaments en clinique

Peu d'essais cliniques ont été débutés avec le Ga-68. Nous allons ici présenter les deux seuls en cours ainsi que quelques exemples marquant d'emploi du Ga-68 avec des petites cohortes de patients dans les années précédentes.

II.E.1 La 68Ga-transferrine

Dès 1999, Nama et al utilise le Ga-68 dans l'évaluation des échanges protéiques anormaux chez les nouveau-nés atteints d'un syndrome de détresse respiratoire (97). Quatorze enfants sains et 12 enfants malades sont contrôlés par TEP au niveau pulmonaire après injection de transferrine marquée au Ga-68. Le taux de fuite transcapillaire est ainsi évalué. Les résultats montrent une augmentation significative des échanges de 68Ga-transferrine dans les poumons chez les patients atteints d'un syndrome de détresse respiratoire. Pour 5 d'entre-eux, la mise sous traitement par surfactant a permis de réguler ce phénomène

II.E.2 L'anticorps bispécifique anti-MUC-1 / anti-Ga

L'utilisation d'un anticorps bispécifique ciblant à la fois un antigène tumoral et une molécule chélatante marquée est connue depuis 1985 grâce à Reardan et al (98). Au cours des dernières années, plusieurs équipes ont travaillé sur la méthode de préciblage en deux ou trois étapes (99–101). Cette technique permet d'améliorer la sensibilité de détection de la tumeur. Succinctement, l'anticorps est injecté dans un premier temps puis après un délai dépendant de sa cinétique de fixation, un chélatant marqué ou un haptène marqué est injecté dans un second temps. Il ira de façon rapide et spécifique se fixer à l'anticorps qui possède un site de reconnaissance pour la molécule radioactive. Le but majeur de cette méthode est l'évaluation dosimétrique par TEP suivi d'un traitement par thérapie interne vectorisée individualisée. En 2001, Schuhmacher et al teste leur anticorps bispécifique anti-MUC1 / anti-Ga sur 10 patientes atteintes d'un cancer du sein exprimant MUC-1 (102). L'anticorps murin reconnaît à la fois le TAG-12 équivalent de MUC-1 chez la souris et le chélatant ⁶⁸Ga-HBED-CC. Les résultats sont cependant décevants car les ratios tumeur / tissu sain et tumeur / sang sont faibles et ne permettent pas une bonne détection. Les auteurs expliquent ce bilan par une mauvaise reconnaissance de l'antigène par l'anticorps et une internalisation de celui-ci qui limite la quantité de chélatants fixés à la tumeur. Sa comparaison avec le ¹⁸F-FDG n'étant pas favorable, l'équipe a décidé de ne pas poursuivre les essais.

II.E.3 Les analogues de la bombésine marqués au Ga-68

II.E.3.a Le ⁶⁸Ga-AMBA

La bombésine est un peptide d'amphibien analogue du *gastrin-releasing peptide* (GRP) humain. Ce peptide est décrit comme jouant un rôle dans la croissance tumorale par sécrétion autocrine de la tumeur. Des récepteurs ont été isolés dans de nombreux cancers notamment dans le cancer du poumon à petites cellules, du sein, de la prostate, du pancréas, du colon, de l'estomac, des gliomes et des sarcomes d'Ewing (49). Quelques essais chez l'homme ont été rapportés. En 2007, un essai avec le ⁶⁸Ga-AMBA a été débuté chez 15 patients atteints de cancers histologiquement différents (103). Les premiers résultats montrent une détection PET positive pour deux patients atteints de cancer de la prostate métastasé, un patient atteint d'un gastrinome métastatique et un

patient atteint d'un cancer médullaire de la thyroïde. Au niveau de sa biodistribution, le ^{68}Ga -AMBA fixe fortement le pancréas sain mais faiblement les autres organes. Ce bilan intéressant devait donner suite à d'autres essais mais à l'heure actuelle, aucune nouvelle publication n'a confirmé ces premiers résultats.

II.E.3.b Le ^{68}Ga -BZH₃

Un autre analogue de la bombésine, le BZH₃ a fait l'objet de recherche clinique. En 2007, Dimitrakopoulou évalue l'intérêt en TEP de ce nouveau vecteur marqué en le comparant au ^{18}F -FDG chez 17 patients atteints de tumeurs stromales gastro-intestinales (104). Les résultats restent décevants car la fixation tumorale est faible par rapport au ^{18}F -FDG. L'équipe confirme le phénotype inadapté de ce type de tumeur qui exprime peu les récepteurs au GRP.

En 2011, la même équipe propose l'évaluation du ^{68}Ga -BZH₃ versus ^{18}F -FDG chez 15 patients atteints de gliomes récurrents à différents stades. Les résultats de cette étude sont plus intéressants que dans les tumeurs stromales gastro-intestinales. En effet, le ^{68}Ga -BZH₃ corrèle les résultats de stadification obtenus par le ^{18}F -FDG avec une meilleure sensibilité pour les patients de bas grade et de haut grade (selon la classification de l'OMS) (105). L'équipe poursuit ces travaux sur le ^{68}Ga -BZH₃ dans le gliome. Une publication est d'ailleurs parue très récemment (106).

ÉVALUATION DES CONTRAINTES A L'HOPITAL

Plusieurs services de médecine nucléaire français ont la volonté de développer une activité d'imagerie TEP au Ga-68. Pour cela, les radiopharmacie doivent s'équiper pour la préparation des MRP marqués au gallium 68. Actuellement, seules les radiopharmacies de Bordeaux, Nantes et Paris sont opérationnelles. Un programme hospitalier de recherche clinique national centré sur les dérivés de la somatostatine marqués au Ga-68 a été déposé. Ce programme est mis en œuvre annuellement dans les établissements publics de santé. Il permet, après sélection, de retenir et de financer des projets de recherche clinique, en fonction de thématiques de santé publique prioritaires.

Dans ce cadre, le service de médecine nucléaire du CHU de Grenoble souhaite s'engager dans cette voie et développer la recherche dans ce secteur. Avant de mettre en place cette nouvelle technique de marquage dans la radiopharmacie associée au service de médecine nucléaire, il est nécessaire de faire un état des lieux puis d'étudier les contraintes de cette installation. Ce chapitre propose de les étudier pour les générateurs, les matières premières, les procédés de marquages, les équipements et les locaux. Il abordera également l'automatisation, nouvelle étape dans l'évolution de la pratique radiopharmaceutique.

I Choix du générateur de Ga-68

I.A Historique

Depuis plusieurs dizaines d'années, les générateurs sont couramment utilisés dans les services de médecine nucléaire pour la production du Tc-99m. Aujourd'hui, la technique tend à se développer pour la production du Ga-68 à l'échelle hospitalière. Ce générateur nouvellement commercialisé n'est cependant pas si récent. La production du Ga-68 à partir du Ge-68 a été décrite dès les années 50, elle utilisait plusieurs méthodes de séparation dont l'extraction. Les protocoles employaient différents solvants organiques comme la méthyl-éthyl-cétone, l'acétyl-acétone, le chloroforme (107,108). En 1978, Mirzadeh et al. propose une technique de distillation du Ge-68 sous la forme de GeCl_4 (109). Ces techniques donnaient de bons résultats de rendement et une faible contamination par le Ge. Le Ga était sous forme d'ion libre utilisable pour un possible marquage. Cependant, elles n'étaient pas transposables pour une utilisation chez

l'homme. En effet, la plupart des solvants d'extraction employés sont considérés comme toxiques et donc interdits en clinique. De plus, les volumes nécessaires pour la production d'une activité suffisante de Ga-68 étaient beaucoup trop importants.

En 2011, Shehata et al. propose un nouveau solvant, l'Aliquat 336 (chlorure de tri-octyl-méthyl-ammonium) dans l'O-xylène (110). La solution est mélangée avec de l'acide chlorhydrique comme donneur d'ions chlore. Le Ga-68 sous la forme de GaCl_4^- réagit avec la phase organique. Puis pour éliminer le Ge restant, la phase organique est rincée avec du HCl. Le Ga-68 est ensuite récupéré en phase aqueuse par l'ajout d'hydroxyde de potassium. Le rendement de purification par cette technique est de plus de 95 % et l'auteur qui la compare à une des techniques actuelles de pré-purification conclut à une plus grande efficacité de la méthode d'extraction. Malheureusement, le Ga-68 est sous la forme d'hydroxyde qui est inutilisable pour un marquage. Actuellement la technique d'extraction liquide-liquide n'est pas retenue et cette voie semble être abandonnée par les radiochimistes.

I.B Les générateurs basés sur la chromatographie d'échanges d'ions

Pour répondre au problème de l'utilisation clinique du Ga-68, des générateurs basés sur la chromatographie d'échanges d'ions ont été proposés. Le principe repose sur l'utilisation d'une phase stationnaire constituée de macromolécules formant un solide poreux insoluble dans les solvants d'élution et ayant la propriété de pouvoir échanger des ions avec la phase mobile. Les colonnes développées pour la production de générateurs Ge-68 / Ga-68 sont constituées de matrices échangeuses de cations. Elles ont comme propriété principale de retenir sélectivement le Ge-68 tout en facilitant l'élution du Ga-68.

I.B.1 Les principes généraux de l'échange d'ions

I.B.1.a L'équilibre ionique

La réaction d'échange ionique est réversible. Il s'agit donc d'un équilibre. Il s'observe une compétition entre les deux ions A en solution et B fixé à la résine. La réaction s'écrit :



As : ion A en solution

Ar : ion A sur la résine

D'après la loi d'action de masse, la constante d'équilibre de la réaction s'exprimera par

$$K_B^A = \frac{[A]_r^b [B]_s^a}{[A]_s^b [B]_r^a}$$

Les crochets représentent la concentration des ions en mmol / mL en solution et en mmol / g pour la résine.

1.B.1.b Les facteurs influençant la constante d'équilibre

Différents facteurs interviennent sur la réaction d'équilibre (111) :

- La composition ionique de la résine : il s'agit de la nature de la résine et du type de fonctions ionisées qui la composent.
- Le taux de pontage : plus le taux de pontage est élevé, plus la résine devient sélective.
- L'affinité de l'ion : si A en solution a une affinité supérieure pour la résine que B qui est fixé, l'équilibre est en faveur d'un échange des ions au niveau de la résine. Inversement si A est moins affiné.
- La force ionique de la solution : en réalité, la constante d'équilibre s'exprime avec les coefficients d'activité de chaque ion. Cependant, ceux-ci sont difficilement mesurables sur une résine échangeuse d'ions. Les constantes sont donc calculées à partir des concentrations en ions.
- Le pH et la salinité de la solution : ils influent sur la capacité d'échange de la résine qui correspond au nombre d'ions échangeables par la résine en conditions données.
- La température à laquelle aura lieu la réaction.

1.B.1.c La sélectivité

La constante d'équilibre est également appelée coefficient de sélectivité de la résine ou facteur de séparation entre deux ions (112). Plus sa valeur augmente, plus la séparation entre les ions est bonne et l'affinité de la résine pour un ion est élevée. La

sélectivité de la résine est essentiellement influencée par la charge ionique de l'ion à retenir et sa nature.

1.B.1.d Les considérations pratiques pour le générateur Ga/Ge

Les matrices fixant le Ge-68 doivent être sélectives.

Elles doivent posséder une bonne résistance à l'irradiation et une stabilité vis-à-vis des solutions acides qui sont les plus utilisés pour l'élution (113,114).

Les solvants d'élution ne doivent pas être toxiques pour l'homme.

Le marquage implique que le Ga-68 soit élué sous la forme réactive d'ions libre Ga^{3+} avec une très bonne pureté radiochimique et radionucléidique. Pour cela, les matrices ne doivent pas rejeter de contaminants constitutifs ou adsorbés durant l'élution.

I.B.2 Les matrices

1.B.2.a Les matrices inorganiques

La première matrice proposée était inorganique et constituée d'oxyde d'aluminium (Al_2O_3) (10). Le Ga était élué par l'EDTA à 5mM à pH 7 formant un complexe $\text{Ga}(\text{EDTA})^-$. Le rendement de marquage était de 70% mais les auteurs observaient une diminution dramatiquement du marquage avec le vieillissement du générateur. L'explication avancée était une augmentation des contaminants métalliques notamment d'Al qui rentrait en compétition avec le Ga et réduisait les rendements. Sur ce même principe, une matrice d'oxyde de zirconium a également décrite (115). L'élution était réalisée par l'EDTA et les auteurs utilisaient directement le complexe pour produire des images. Le remplacement de la matrice par une matrice d'oxyde d'antimoine (Sb_2O_5) permit une stabilisation de la matrice dans le temps et une fixation du rendement à 80% (116). Le solvant d'élution était composé des ions oxalates. Ces formes complexées du Ga demandaient une étape supplémentaire pour libérer l'ion Ga^{3+} avant son marquage avec d'autres molécules d'intérêt thérapeutique. Au-delà de la perte d'activité durant la manipulation, ce passage obligatoire augmentait drastiquement le temps de synthèse diminuant ainsi les possibilités de marquage (117,118).

Afin d'obtenir du Ga sous forme ionique, Kopecky et al. comparent à différents pH d'élution des matrices d'oxyde de fer et d'aluminium acide, neutre et basique (117). Les résultats indiquent que l'oxyde d'aluminium base est la matrice la plus intéressante et

qu'en milieu acide, une élution avec une solution d'HCl à 0,2 M est la plus adaptée pour l'élution du Ga-68 sous forme ionique. En-deçà d'un pH inférieur à 1,5 les auteurs démontrent que sa diminution influe peu sur le rendement d'élution alors que la concentration en contaminants est très augmentée. L'utilisation d'HCl est confirmée par Loc'h et al. qui propose l'élution d'une colonne d'oxyde d'étain (SnO₂) par l'HCl 1 M. Le rendement d'élution est de 78 % avec un taux de Ge de 2.10⁻⁴ % par élution (119). Le traitement intensif de ce générateur pour simuler de nombreuses éluions n'a pas montré de modification du rendement en Ga-68 ou d'augmentation du Ge-68 dans les éluats. Beaucoup d'autres matrices ont été conçues mais les rendements d'élution ou les solvants utilisés étaient inadaptés à la clinique (120–123).

En 2010, Chakravarty et al. proposent deux nouvelles matrices. La première est une matrice de polyacrylonitrile nanoceré (124). L'élution est réalisée en HCl 0,01 M. Le rendement est supérieur à 80 % durant 7 mois. La contamination en Ge-68 est très faible, inférieure à 1.10⁻⁵ % de l'activité totale éluee et la pureté radiochimique de l'éluat est supérieure à 99,9 %. L'année suivante, la même équipe décrit une matrice de nanoparticules de Zirconium (114). Les résultats de pureté et de contamination de l'éluat sont sensiblement identiques. En outre, aucun contaminant issu de la matrice n'a été détecté.

1.B.2.b Les matrices organiques

Le Ge⁴⁺ est connu pour former des complexes stables avec les groupements phénoliques (125). Partant de cette propriété, Schuhmacher et al. produisent une matrice cationique de copolymère de pyrogallol-formaldéhyde (42). L'élution est réalisée en HCl 4,5 M et les rendements varient de 7 % et 80 %. Suite à cet essai, Neirinckx et al. testent la colonne sur 600 éluions et concluent à une bonne stabilité de la matrice ainsi qu'à une bonne résistance de la colonne à l'irradiation (126). Ce générateur fait-maison ne peut cependant pas être commercialisé car le volume d'élution requis est de 10 mL et le pH de l'éluat possède une valeur beaucoup trop faible pour permettre un marquage.

Une autre matrice organique de copolymères macroporeux de styrène-divinylbenzène contenant des groupements N-méthylglucamine est décrite par Nakayama et al. en 2003 (127). Les groupements hydrophiles demandent une élution en sel de citrate ou de

phosphate. Cette matrice n'a cependant pas été réutilisée car elle montre une instabilité aux rayonnements γ provoquant la fuite de Ge-68 au cours du temps.

I.C Les générateurs commercialisés

I.C.1 Les différents générateurs

Plusieurs générateurs ont été commercialisés. Les caractéristiques générales de chacun sont présentées dans le tableau 7.

	Cyclotron Co Ltd, Obninsk (128)	Eckert and Ziegler (129)	iThemba (130)	Isotope Technologies Garching (ITG) GmbH (131)
Origine	Russie	Etats-Unis	Afrique du Sud	Allemagne
Matrice	TiO ₂	TiO ₂	SnO ₂	pyrogallol
Solvant d'éluion	HCl 0,1 M	HCl 0,1 M	HCl 0,6 M	HCl 0,05 M
Rendement d'éluion %	70-80	> 70	75	80
% de Ge-68 de l'activité ^(a)	<0,01	<0,0001	< 0,01	<0,005

Tableau 7. Caractéristiques principales des générateurs commercialisés

(a) Pourcentage évalué uniquement à la mise en place du générateur.

I.C.1.a Le générateur d'Obninsk avec une matrice TiO₂

Le premier générateur commercialisé est produit par le cyclotron d'Obninsk. Sa matrice est en dioxyde de Titane et l'éluion est réalisée en 6 mL par du HCl 0,1 M. En 2005, ce générateur est testé par l'équipe de Breeman et al (132). L'éluion a un rendement de 90 % mais après 8 mois le rendement diminue à 60 %. Les auteurs émettent l'hypothèse que cette chute est liée à l'instabilité de la matrice au cours du

temps et dont l'affinité pour le Ga-68 augmente. Pour eux, le pourcentage de Ge-68 présent est stable à 0,002 % de l'activité totale éluée. En 2008, l'équipe de Asti et al. montre l'augmentation importante de la fuite de Ge-68 au fur et à mesure du temps pour le générateur d'Obninsk (128). L'augmentation est estimée à 15 % de Ge-68 en plus par mois passant de 0,01 % à 0,026 % de l'activité totale éluée. Elle est liée à la perte de rendement observé par les auteurs passant de 82 % à 69 % en 7 mois. Cette dernière étude tempère les résultats obtenus par Breeman et al et confirme les observations rapportées par les radiopharmacien possédant ce générateur.

1.C.1.b Le générateur de Eckert et Ziegler avec une matrice TiO_2

Le générateur commercialisé par Eckert et Ziegler est présenté par Ocak et al. en 2010 (129). Ce générateur possède également une colonne avec une matrice en TiO_2 et est élué par de l' HCl 0,1 M. Les essais réalisés sur différents volumes d'élution montrent que les rendements restent identiques à 73 % entre 5 mL et 10 mL. La mesure du Ge-68 48h après l'élution est inférieure à 0,0001 % lors de la mise en place du générateur. Actuellement, il s'agit de la seule publication présentant les caractéristiques de ce générateur. Sa comparaison avec le générateur d'Obninsk serait intéressante notamment en termes de stabilité de la matrice qui semble meilleure pour celle du générateur de Eckert et Ziegler.

1.C.1.c Le générateur de IThemba avec une matrice SnO_2

Après les travaux réalisés dans les années 70 et 80, Aardanesh et al. reprennent les recherches sur la matrice SnO_2 (35). Ils comparent différentes synthèses de la matrice. Après calcination du SnO_2 à 900°C, la diminution de la taille des pores diminue la fuite de Ge-68 et augmente le rendement d'élution. En 2011, le premier générateur commercialisé par IThemba est caractérisé par l'équipe de De Blois et al. Les éluions sont réalisées en gradient de concentration d'HCl de 0,3 à 1 M. L'optimisation donne un rendement d'élution de 75 % pour une concentration en HCl de 0,6 M. Après 300 j, l'élution est pratiquement identique et la perte en activité est faible. De plus, le pourcentage de Ge-68 dans l'éluat reste stable après 9 mois d'utilisation à 0,01 % de l'activité totale en Ga-68.

I.C.1.d Le générateur de ITG avec une matrice pyrogallol

Le dernier générateur commercialisé est celui de ITG. Il utilise les travaux réalisés sur la matrice organique pyrogallol-formaldéhyde et N-méthylglutamine (42,127). Zhernosekov présente au congrès de l'EANM en 2010 le principe de cette colonne (131). Il s'agit d'une résine portant des fonctions pyrogallols fixés grâce au dodécyl-3,4,5-trihydroxybenzoate, insoluble dans l'eau, sur un support inerte. L'élution est réalisée en HCl 0,05 M. Le rendement d'élution est de 80 %. Sur un an, la contamination en Ge-68 oscille entre 0,0004 % et 0,003 % de l'activité éluee. Ce nouveau générateur a la particularité d'être stérilisable. Très récemment, une première publication de marquage d'analogues de la somatostatine avec ce générateur montre que le pourcentage en Ge-68 reste inférieur à 0,001 % de l'activité totale en Ga-68 (133).

I.C.2 La réglementation des générateurs

Les générateurs dépendent de la directive européenne 2004/27/EC modifiant la directive 2001/83/EC instituant un code communautaire des médicaments à usage humain (134). L'article 6.1 définit la commercialisation d'un médicament : *Aucun médicament ne peut être mis sur le marché d'un État membre sans qu'une autorisation de mise sur le marché n'ait été délivrée par l'autorité compétente de cet État membre.* L'article 6.2 précise que les générateurs de radionucléides requièrent cette autorisation. De même, le statut de l'éluat est défini par cette même directive à l'article 46 : *Le titulaire de l'autorisation de fabrication est tenu au moins de respecter les principes et lignes directrices relatifs aux bonnes pratiques de fabrication des médicaments et d'utiliser seulement en tant que matières premières des substances actives fabriquées conformément aux lignes directrices détaillées relatives aux bonnes pratiques de fabrication des matières premières.*

De façon pratique, un générateur ne peut être commercialisé que s'il répond aux exigences communautaires ou nationales en termes de sécurité du médicament. Ceci se traduit par l'application du guide européen de Bonnes pratiques de fabrications pour la fabrication des médicaments à usage humain ou vétérinaire (BPF) (135). La transcription des ces règles opposables en droit français est la partie 2 des Bonnes pratiques de fabrication relative aux substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments (136). Actuellement, le seul générateur ayant obtenu une autorisation de

production selon les BPF est le générateur de Ge-68 / Ga-68 de Eckert et Ziegler en Allemagne. Cette autorisation nationale facilite l'utilisation de ce générateur à des fins de recherches cliniques nationales dans ce pays. En France, aucun générateur n'a actuellement reçu ce type d'autorisation. Toutefois, il est envisageable que les autorités compétentes françaises (ANSM, ASN) soient favorables au développement de ce générateur « BPF » pour des essais cliniques qui vont être prochainement déposés en France.

I.C.3 Les contraintes liées aux générateurs

I.C.3.a La stérilité

Le générateur et le solvant d'élution sont considérés comme des matières premières pour la fabrication de médicaments injectables à l'homme et le maintien de leur stérilité/apyrogénicité doit être assuré. A ce titre, selon le mode de production, elles n'ont pas l'obligation d'être stériles bien que cela soit conseillé. Actuellement, les générateurs sont commercialisés avec une durée de vie de 1 an en moyenne. L'utilisation prolongée du générateur pose le problème de la contamination bactérienne de la colonne. L' HCl 0,1 M semble moins favorable à la croissance bactérienne que le solvant d'élution du générateur Mo-99 / Tc-99m qui est du sérum physiologique. Toutefois, le solvant présenté sous un conditionnement de grand volume, relié au générateur par une tubulure stérile, peut être contaminé lors d'erreur de manipulation ou lors des différentes opérations effectuées autour du générateur.

De la même manière, la structure du générateur ne permet pas le nettoyage et une désinfection de la colonne après son utilisation. Le risque bactérien est beaucoup plus important qu'avec les générateurs de Mo-99 / Tc-99m qui sont remplacés toutes les semaines. Le générateur Ge-68 / Ga-68 de ITG est le seul à proposer une stérilisation par autoclave de la colonne après sa production. L'industriel certifie donc la stérilité de son produit. Malgré son intérêt, un scénario défavorable serait la contamination de la colonne par le solvant durant l'élution du générateur. Dans ce cas, la stérilité de la colonne serait compromise. EANM a récemment publié un guide de bonnes pratiques de radiopharmacie sur la préparation à petite échelle de MRP (137). Ils suggèrent que *même si l'on prend soin de minimiser la contamination microbiologique lors de la synthèse, un médicament radiopharmaceutique produit in situ à petite échelle est considéré comme*

non stérile jusqu'à ce qu'il soit passé à travers un filtre de qualité stérilisante. Ils reprennent ainsi le guide des Bonnes pratiques de préparation (BPP) en proposant d'opter préférentiellement pour le procédé de préparation de médicaments stériles par filtration stérilisante lors de la production en radiopharmacie et en centre privé.

Au vu du risque important, il paraît obligatoire que la filtration stérilisante soit le seul mode de production acceptable pour toute fabrication hospitalière de MRP marqués au Ga-68.

L'équipe de Blom propose une technique de stérilisation par la vapeur lors de la préparation du DOTA-NOC marqué au Ga-68, au moment du marquage (133). Leur technique appelée « autoclabeling » consiste à fixer la température à 121 °C au lieu de 90 °C. Le temps de marquage est également allongé de 10 min à 15 min. Ils reprennent ainsi les conditions de stérilisation par la vapeur décrites dans le texte général des méthodes de préparation des produits stériles issues de la PhE (138). D'après les auteurs, les rendements de marquages sont meilleurs que dans le procédé de synthèse classique. Cependant, ils ne discutent pas réellement de l'augmentation de la durée de synthèse ni de la perte réelle d'activité. De plus, aucune validation de la méthode de stérilisation n'a clairement été réalisée durant cette étude. Pour le moment, cette technique n'est donc pas utilisable pour la préparation de MRP au Ga-68.

1.C.3.b La dosimétrie du personnel

Le Ga-68 est un émetteur dont l'énergie de rayonnement est très élevée puisque le β maximum est à 1899 KeV et le γ à 1077 KeV. Peu d'études ont été réalisées sur les doses prises par le personnel au moment de la synthèse et de l'injection de MRP marqués au Ga-68.

Breeman et al mesure le débit de dose aux doigts et aux mains au moment de l'injection de solution de Ga-68 en utilisant différentes épaisseurs de seringues et l'ajout ou non d'un protège-seringue en plastique (132). Avec le protège-seringue, la diminution dosimétrique observée au niveau des doigts et des mains est d'un facteur 75 au contact.

La dose prise par l'opérateur durant la synthèse est évaluée par Asti et al (128). La dose moyenne absorbée par le bout des doigts de l'opérateur au cours de la procédure de synthèse variait de $5,53 \pm 1,22$ mSv / GBq pour l'index gauche à $0,43 \pm 0,08$ mSv / GBq

pour le petit doigt. La réglementation au regard de la directive 96/29 EURATOM du conseil du 13 mai 1996 fixant les normes de bases relatives à la protection sanitaire de la population et des travailleurs contre les dangers des rayonnements ionisants étant de 500 mSv par an pour un personnel de catégorie A et de 150 mSv par an pour le personnel de catégorie B, les auteurs recommandent un roulement des opérateurs lors de ces manipulations.

L'arrivée d'automates de synthèses a remis en cause ce problème. En effet, ces appareils prennent en charge toutes les étapes de la préparation, de l'éluion du générateur jusqu'à la filtration du produit dans son conditionnement final. Une étude récente de Dwivedi et al. sur la préparation de DOTA-NOC marqué au Ga-68 montre que les doses moyennes prises durant la synthèse sont à la base de l'annulaire gauche de $3,02 \pm 1,01$ mSv et à la base de l'annulaire droit de $1,96 \pm 0,86$ mSv. Pour les auteurs, les doses prises par le personnel sont acceptables au regard de la directive (139).

II L'éluat de Ga-68

II.A Monographie

II.A.1 Résumé de la monographie

La définition de la monographie est la suivante : *Solution contenant du gallium-68 sous forme de chlorure de gallium dans de l'acide chlorhydrique dilué. La préparation peut contenir de l'acétone* (140).

La présence d'acétone est liée aux procédés de synthèse qui seront détaillés par la suite. Etant considérée par *l'International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use* (ICH) comme un solvant avec un faible potentiel de toxicité (de niveau 3), la quantité d'acétone autorisée est de 5000 ppm. Les différentes études ont montré que cette limite est bien supérieure au taux résiduel d'acétone retrouvé dans l'éluat ou le produit fini (141).

Cependant son taux devra être déterminé lors de la validation du procédé de synthèse conformément aux BPP.

La teneur en Ga-68 est fixée entre 90 % et 110 % de la radioactivité du au Ga-68 à la date et heure figurant sur l'étiquette. Le tableau suivant résume les paramètres qualités de la monographie de l'éluat de Ga-68.

Paramètres	Méthodes	Limites
Caractères organoleptiques	visuelle	Limpide et incolore
Pureté radionucléidique	Spectrométrie gamma	0,511 MeV et 1,077 MeV. Un pic somme à 1,022 MeV peut apparaître
Détermination de la période	activimètre	62 min à 74 min
pH	Bandelette indicatrice de pH	Maximum 2
Teneur	Colonne cationique	Minimum 90 % de la radioactivité figurant sur l'étiquette
caractérisation	Solution de nitrate d'argent	Précipité blanc
Endotoxines bactériennes ^(a)		Inférieure à 175 UI / V ^(b)
Fer	Spectrométrie d'absorption atomique	10 µg / GBq
Zinc	Spectrométrie d'absorption atomique	10 µg / GBq
Ge-68 et impuretés émettrices γ ^(a)	Spectrométrie gamma à 0,511 MeV après 48 h	Maximum 0,001 % Ge-68 de la radioactivité totale
Pureté radiochimique	Chromatographie sur couche mince (CCM)	Minimum 95 % de la radioactivité totale

Tableau 8. Résumé des paramètres qualités de la monographie de l'éluat de Ga-68

(a) Essai réalisé à postériori de la libération

(b) V est le volume maximal pouvant servir à la préparation d'une dose destinée à un seul patient.

II.A.2 Les contaminants

II.A.2.a *Le germanium-68*

La biodistribution et la dosimétrie aux différents organes du Ge-68 n'ont pas fait l'objet de nombreuses études jusqu'à aujourd'hui. De ce fait, la question des limites acceptables de Ge-68 dans l'éluat de Ga-68 et le devenir du Ge et du Ga formé in vivo ont été posés lors de l'écriture de la monographie de l'éluat de Ga-68.

Les premières études mesurent la dosimétrie du Ge-68 et du Ga-68 au niveau hépatique. Elles ont été réalisées avec du Ga-EDTA. La dose lors de l'injection de colloïdes de Ge-68 et de Ga-68 chez l'homme est calculée selon les périodes des deux éléments. A activité égale, les doses prises par le foie sont environ 1000 fois plus importantes avec le Ge-68 (142). Par la suite, une autre étude montre une très forte augmentation de la dose avec l'augmentation modérée de contaminations par le Ge-68. Ces premières études postulaient le fait que le Ge-68 était fixé « à vie » sur le foie. Elles sont aujourd'hui obsolètes puisque la forme chimique obtenues pour le Ga et le Ge sont différentes et que la fixation au foie est limitée. Les études suivantes se sont attachées à évaluer la biodistribution et la dosimétrie aux organes selon la forme chimique du Ge et selon différentes voies d'administration (143–146). Il semble que le Ge-68 ait une cinétique variable selon sa forme chimique avec une affinité particulière pour les graisses. En 2012, Clemens Descritoforo présente une estimation lors de l'injection de 100 MBq de Ge-68 chez l'homme (94). Les modèles proposent une évaluation pour les reins, le foie, les poumons, la rate et la moelle osseuse quand 100 % de la dose est immédiatement fixée à l'un des différents organes. Un dernier modèle présente les doses reçues par ces différents organes quand la dose injectée est distribuée à 20 % pour chaque organe. L'extrapolation de ces résultats donne, dans le cas d'une quantité de Ge-68 de 0,01 % d'une dose de 100 MBq de Ga-68 injectée, des valeurs allant de 0,65 mSv pour les reins à 6,29 mSv pour la rate avec une dose efficace de 3,23 mSv / MBq dans le cas d'une répartition de l'activité à tous les organes étudiés. Cependant l'auteur conclut sur les limites de cette étude puisque la biodistribution du Ge-68 n'est pas réellement connue. Il justifie ainsi la limite fixée par la PhE à 0,001 % de Ge-68.

II.A.2.b Les contaminants métalliques

Depuis l'utilisation en routine de générateurs de Ge-68 / Ga-68, une concertation a été lancée sur la présence de contaminants métalliques dans l'éluat de Ga-68. Ces contaminants sont à l'origine de la perte de rendement de marquage et de diminution de l'AS lors de la synthèse des MRP. L'origine de ces contaminants est multiple. Ils peuvent être issus de la synthèse du Ge-68 en fonction de la cible utilisée mais aussi du procédé de purification. Comme nous l'avons vu (cf. chap. II.A.2.e), les cibles de Ga-69 induisent la production de Fe, Nb, Cu, Pb, Co, Cr, Cd, Ni, Mn et Al. Le Zn-68 est également produit naturellement par décroissance du Ga-68. D'autres contaminants issus de la colonne comme le Ti ou le Sn peuvent également être détectés. Enfin, la présence de contaminants dans le matériel a également été mise en cause surtout pour les flacons en verre non traités et certains plastiques (118).

II.B La contrainte liée à l'éluat : l'étape de pré-purification

Pour améliorer l'AS et limiter la contamination par du Ge-68 et des métaux, plusieurs techniques de pré-purification de l'éluat ont été mises au point. Les caractéristiques de chacune sont résumées dans le tableau 9.

Méthodes de pré-purification	Solvant final avant marquage	compatibilité	Inconvénients et défis	références
Fractionnement	Solvant d'éluat	[HCl]< 1 M	Contaminants métalliques et Ge-68	(114,130,132)
Echange anionique	Eau pure	Tout type	Etape supplémentaire d'acidification	(42,46,113,130,147)
Echange cationique	Acétone / HCl en proportion divers	[HCl]< 1 M	Traces d'acétone	(128–130,148,149)

Tableau 9. Caractéristiques des différentes méthodes de pré-purification

II.B.1 Les différentes méthodes

II.B.1.a Fractionnement

La technique par fractionnement est mécanique et utilise le même principe que l'élution fractionnée du générateur de Mo-99 / Tc-99m. Le générateur est élué mL par mL par le solvant d'élution. Ce principe repose sur la distribution gaussienne de la radioactivité dans le volume total d'élution. En pratique, seules les fractions centrales sont conservées, les autres sont jetées. L'activité volumique est de ce fait très élevée avec un rendement d'élution satisfaisant.

La première description de cette méthode avec le générateur d'Obninsk a été réalisée par Breeman et al (132). L'élution est réalisée en 24 fractions de 0,25 ml chacune. Tous les résultats de dosage des métaux sont présentés dans le tableau 10. Ils montrent que l'utilisation des fractions centrales 6 à 9 permet de conserver 80 % du rendement d'élution totale dans un volume de 1 mL. D'après les résultats de dosage, l'éluat est conforme à la monographie.

L'équipe de De Blois utilise l'élution fractionnée pour caractériser le générateur IThemba (130). Douze fractions de 0,5 mL sont réalisées. Les fractions 5 à 7 correspondent à 75 % du rendement total d'élution. Les résultats de dosage ne permettent cependant pas de vérifier la conformité avec la PhE car les activités éluées ne sont pas connus (cf. tab.10). Comme précédemment, le pourcentage de Ge-68 est évalué au moins 24 h après élution. Il reste cependant supérieur à la monographie et invalide cette technique pour le générateur IThemba.

Le générateur en nanoparticules de Zr présenté par Chakravarty et al a également été testé en élution fractionnée. Sur 4 mL élués, le profil d'élution montre que 90 % de l'activité est retrouvé dans les fractions 3 et 4 de 0,5 mL chacune. Le pourcentage de Ge-68 est évalué sur 24 h et paraît conforme à la PhE (cf. tab. 10). Ni le Zn, ni le Fe ne sont dosés par les auteurs. D'autres essais devront donc être réalisés pour valider cette purification pour ce générateur.

Référence	% Ge-68	Zn résultats	Fe résultat	Activité éluée (MBq)	Zn µg / GBq	Fe µg / GBq	Conformité PhE
Breeman (132) Générateur Obninsk	0,00056 (a)	< 50 nM	< 50 nM	286	0,0013	0,0009	conforme
De Blois (130) Générateur IThemba	0,01 (a)	< 10 ppm (b)	< 10 ppm (b)	-	-	-	Non conforme
Chakravarty (114) Générateur ITG	1.10 ⁻⁵	-	-	666	-	-	-

Tableau 10. Résultats des dosages de métaux et du Ge-68 pour la pré-purification par fractionnement

(a) Le % Ge-68 dans l'éluat est mesuré plus de 24h après l'éluion.

(b) Dosages réalisés sur la totalité du volume élué.

II.B.1.b Chromatographie par échanges d'anions

En solution d'HCl concentrée à minimum 3 M, l'ion Ga³⁺ forme des complexes anioniques [GaCl₆]³⁻ et [GaCl₄]⁻ qui sont retenus par une colonne échangeuse d'anions alors que le Ge, qui est sous forme ionique libre, et une partie des impuretés métalliques sont directement élués. Au départ, cette technique avait été mise au point pour décomplexer le Ga-68 de son solvant d'éluion (26,118,150).

Succinctement, l'éluat est acidifié pour obtenir une concentration en HCl de 4 à 5 M. Puis la solution est injectée sur la colonne qui a été préalablement conditionnée. Après différents rinçages, le Ga-68 est élué. Les différentes techniques de conditionnement et les solvants sont présentés dans le tableau 11.

Les premiers essais de pré-purification sont réalisés par Neirinckx et al (147). Bien qu'ils confirment l'intérêt de ce type de colonne pour éliminer le Ge-68, l'utilisation d'acide fluorhydrique comme solvant d'éluion limite l'intérêt de leurs travaux.

Schuhmacher et al proposent une technique de montage en série de la colonne du générateur maison élué en 10 ml d'HCl 4,5M avec une colonne échangeuse d'anions (42). Elle leur permet de réduire le volume réactionnel et changer de solvant. Pour les auteurs, l'intérêt réside dans le fait que l'éluat est déjà à une concentration d'HCl de 4,5 M et n'a

pas besoin de subir l'étape d'acidification. Le rendement est de 78 % avec une contamination de Ge-68 inférieure à 0,0005 %. Aucun essai de dosage des métaux n'est réalisé par les auteurs. Meyer et al. reprennent le protocole de Schuhmacher et al, en ajoutant une étape d'acidification de l'éluat du générateur russe d'Obninsk (113). L'élution est réalisée en eau pure avec un volume de 80 µL. Ils obtiennent ainsi plus de 90 % de rendement. Il est intéressant de remarquer que le temps complet de marquage est identique. L'activité volumique de cette technique est très élevée avec 10 GBq / mL et présage d'un bon rendement de marquage.

Velikyan et al automatisent la technique et testent plusieurs colonnes (46). Les meilleurs rendements sont obtenus avec l'AG-1 X8 et la colonne commerciale Chromafix SAX SPEC (45mg). L'élution réalisée avec 200 µL d'eau déionisée permet de récupérer 90 % du Ga-68 fixé sur ces colonnes. Le pourcentage de Ge-68 et les contaminants métalliques sont dosés directement sur l'éluat avant purification. Pour De Blois et al., l'AG-1 X8 ne permet pas d'obtenir de bons rendements. Elle n'entraîne qu'un recouvrement de 55 % de l'activité de Ga-68 fixé. Cependant, ils ne reproduisent pas réellement le protocole précédent notamment sur le conditionnement de la résine (cf Tab. 11). Comme précédemment, ils comparent ces colonnes « fait-maison » avec plusieurs colonnes commerciales dont un équivalent de la chromafix. Contrairement à Velikyan et al., ils obtiennent de meilleurs résultats avec un volume en eau supérieur à 400 µL et pour la Oasis WAX (30 mg). De façon intéressante, lors de l'étape de lavage préalable à l'élution de la colonne, ils remplacent la solution d'HCl 5 M par une solution de NaCl 5 M. Malgré une augmentation du pH importante ce qui n'est pas favorable au marquage, les auteurs montrent un rendement d'élution identique.

	Schumacher (42)	Meyer (113)	Velikyan (46)	De Blois (130)
Eluat avant pré-purification	10 mL à 4,5 M d'HCl	25 – 30 mL à 5,5 M d'HCl ou 23 mL à 5,5 M d'HCl	11 mL à 4 M d'HCl	6 mL à 5 M d'HCl
Types de colonne ^(a)	AG-1 X8 (3 * 0,6 cm, 100 – 200 mesh)	AG-1 X8 (3 * 0,18 cm, 100 – 200 mesh)	AG-1 X8 (dia. 0,4 cm, 200 – 400 mesh) Chromafix SAX (45 mg)	Oasis WAX (30 mg)
Conditionnement de la colonne	-	-	HCl 5M puis HCl 1 M puis eau puis HCl 5 M	2 mL d'EtOH puis 2mL d'HCl 5 M
Solution de rinçage	Pas de rinçage car montage en série	1 mL d'HCl 5,5 M puis séchage	2 mL d'HCl 4 M puis séchage	2 mL d'HCl 5 M ou de NaCl 5 M
Solvant d'élution	4 ml d'eau ultra-pure ou d'HCl 0,5 M	80 µL d'eau d'eau pure	200 µL d'eau déionisée	> 400 µL d'eau ultra-pure

Tableau 11. Présentation des différents protocoles pour la pré-purification par colonne échangeuse d'anions

(a) ne sont présentées que les colonnes retenues par les auteurs

II.B.1.c Chromatographie par échanges de cations

Les ions Ga³⁺ sont directement échangeables sur une colonne échangeuse de cations. Cette propriété a donc été étudiée pour la pré-purification de l'éluat. Cependant, ce type de colonne retient également la plupart des contaminants métalliques qui sont sous forme cationique en solution aqueuse. La méthode de chromatographie sur colonne échangeuse d'ions est identique quelque soit la colonne. Les étapes sont donc les mêmes que pour la chromatographie échangeuse d'anions hormis pour l'étape d'acidification de l'éluat.

Strelow et al sont les premiers à tester différents protocoles pour la séparation du Ga-68 et de contaminants métalliques (148). Ils observent que la diminution du pH et l'augmentation de la proportion d'acétone dans le solvant améliore l'élution du Ga. Cependant, l'évaporation de l'acétone entraîne le Ga et diminue sa quantité dans l'éluat. Pour compléter les données sur sa séparation avec d'autres métaux, Zhernosekov et al. adaptent le protocole d'élution de Strelow et al. (cf. Tab. 12) en testant séparément la rétention du Fe^{3+} , du Ge^{4+} , du Zn^{2+} et du Ti^{4+} avec la même colonne (149). Ils montrent que les contaminants métalliques sont bien retenus, excepté le Fe pour lequel environ 50 % de la quantité fixée est éluée. Ils déterminent la quantité d'acétone résiduelle dans produit aux différentes étapes de la synthèse. Dans le produit fini, le taux est inférieur à 0,5 μg .

Asti et al. évaluent la quantité de très nombreux contaminants métalliques dont le Fe^{3+} , Zn^{2+} et Ti^{4+} qu'ils dosent avant purification et dans le produit fini. Dans l'éluat, ces métaux sont en concentration très supérieure aux normes de la PhE. *A contrario* dans le produit fini, les résultats sont satisfaisants. Cependant, les auteurs ne caractérisent pas l'éluat. Ocak et al. sont les premiers à réellement doser les métaux après la pré-purification. Ils automatisent la méthode de Zhernosekov et al. Pour cela, ils utilisent la Strata-X-C qui est une colonne commerciale et modifient le protocole d'élution dont l'étape de rinçage fait chuter le rendement (cf. Tab. 12). Les résultats obtenus pour le Zn et le Fe sont conformes à la PhE. Comme nous l'avons vu précédemment (cf. chap. I.C.1.b), dans cette publication le pourcentage de Ge-68 n'est évalué qu'à la mise en place du générateur. Aucune investigation n'est réalisée après plusieurs mois d'utilisation. Les auteurs rapportent simplement le fait que 90 % du Ge-68 présent dans l'éluat est purifié par cette technique. De Blois et al. évaluent également le générateur SnO_2 avec une pré-purification cationique. Cependant, malgré une tentative d'optimisation des techniques décrites préalablement, le rendement d'élution reste faible par rapport aux autres publications.

	Zhernosekov (149)	Asti (128)	Ocak (129)
Eluat avant pré-purification	7 mL à 0,1 M d'HCl	7,5 mL à 0,1 M d'HCl	6 mL à 0,1 M d'HCl
Types de colonne ^(a)	AG 50W X8 (200 – 400 mesh, 50 mg , 5 * 2 mm)	AG 50W X8 (200 – 400 mesh)	Strata-X-C (30 mg)
Conditionnement de la colonne	1 mL d'HCl 4 M puis 1 mL d'eau	-	-
Solution de rinçage	0,6 mL d'acétone / 0,15 M HCl (80 / 20)	1 mL d'acétone / 0,15 M HCl (80 : 20)	-
Solvant d'élution	0,4 mL d'acétone / 0,05 M HCl (97,6 : 2,4)	0,4 mL d'acétone / 0,05 M HCl (98 :2) en 2 étapes d'abord 150 µL puis 2 min après 250 µL	0,8 mL acétone / HCl 0,002 M (98 :2) puis 3 mL d'eau ultra-pure
Concentration en acétone dans le produit fini	< 0,5 µg	< 0,1 mg / L	-

Tableau 12. Présentation des protocoles de pré-purification par chromatographie échangeuse de cations

II.B.2 Les limites des méthodes de pré-purification

Aucune publication n'a pour le moment portée sur une caractérisation de l'éluat de Ga-68 et sa validation selon la PhE. Plusieurs raisons peuvent être évoquées. La première est que la monographie de l'éluat de Ga-68 est parue en 2011 et n'a donc pas pu être prise en compte dans les travaux. La deuxième est que l'automatisation empêche l'arrêt du processus après la pré-purification car l'éluat purifié est directement récupéré dans le flacon de réaction avec les DOTA-peptides. Enfin, il paraît difficile de caractériser un éluat frais après chaque élution du fait de la forte énergie des rayonnements et des méthodes à employer pour doser les métaux. Récemment, Rossouw et Breeman ont tenté de marquer les peptides sans pré-purification (151). Ils utilisent un générateur IThemba de 3,7 GBq produit *in situ*. Le dosage des métaux réalisés sur l'éluat donnent des résultats conformes à la PhE pour ce générateur. Cependant, le pourcentage de Ge-68 reste très au-dessus des exigences de la monographie. Le contrôle de la quantité de Ge-68 en fin de

synthèse montre que tout le Ge-68 a été éliminé lors de la purification du produit marqué. Au regard de la monographie de l'éluat de Ga-68, cette démonstration reste insuffisante pour permettre son utilisation chez l'homme sans pré-purification.

La récente autorisation de production pharmaceutique du générateur de Eckert et Ziegler ne suffit pas pour son emploi sans une étape de pré-purification. La conformité de l'éluat de Ga-68 doit encore être prouvée par chaque centre avant son utilisation chez l'homme. Pourtant étant le seul à avoir cette autorisation, il paraît être aujourd'hui le plus intéressant pour la mise en place des essais cliniques avec les analogues de la somatostatine. Dans l'avenir, si les autres générateurs reçoivent une autorisation voir une AMM, le choix de générateurs avec des résines organiques dont le relargage de métaux est plus faible semble plus intéressant.

III Les analogues de la somatostatine marqués au gallium 68 comme MRP

III.A Le procédé de synthèse

La figure page suivante (fig. 13) schématise les grandes étapes de la synthèse, depuis l'éluat du générateur jusqu'au conditionnement final du produit (Meyer, 2004).

Tous les analogues de la somatostatine utilisés en clinique sont fonctionnalisés par le même chélatant bifonctionnel, le DOTA. Il se fixe au Ga en ratio de 1 pour 1. L'AS théorique du marquage doit donc être de 102 GBq / nmol de peptide (130). Les conditions générales de synthèse suivant le tampon de la réaction sont résumées dans le tableau 13.

	Acétate de sodium	HEPES
Eluat	0,1 et 0,6 M HCl ou eau	0,1 et 0,6 M HCl, eau ou acétone / HCl
Concentration en peptide	10^{-3} M	10^{-3} M
Quantité de peptides	10 à 40 nmol	2 à 20 nmol
pH	3 - 5	3 - 5

volume	200 μ L à 5 mL	200 μ L à 2 mL
température	80 – 100 °C	80 – 100 °C
temps	5 - 20 min	4 – 10 min

Tableau 13. Conditions générales de synthèse selon le tampon de la réaction

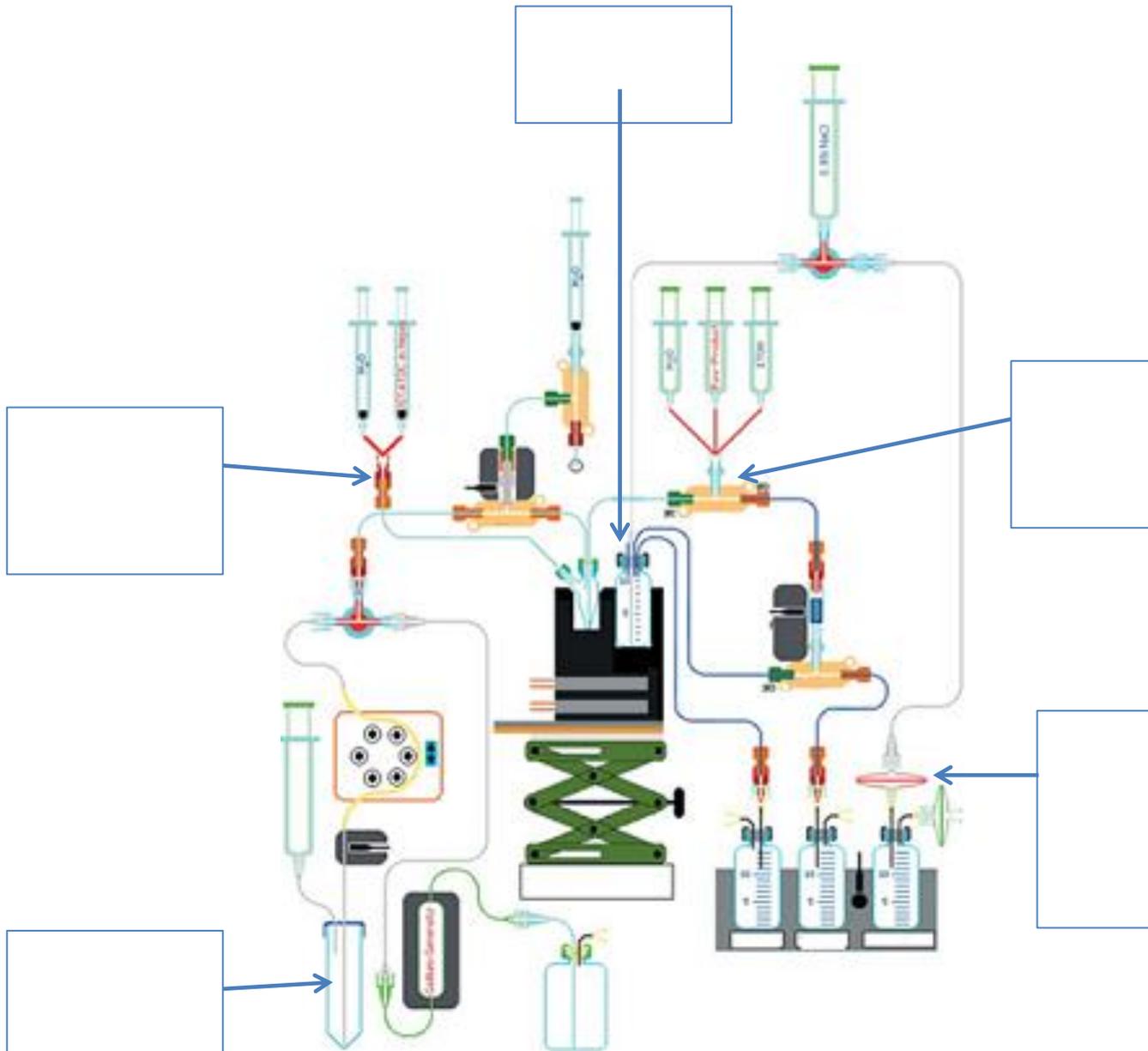


Figure 13. Schéma des grandes étapes de la synthèse du 68-Ga DOTA-TOC

III.A.1 La réaction de marquage

III.A.1.a Les conditions de marquages

Il a été établi que le DOTA avait un coefficient d'affinité élevé pour les métaux à un pH compris entre 3 et 5 (51). Pour des pH supérieurs à 5, des colloïdes oxo- et hydroxo-gallium se forment empêchant la réaction de marquage (113).

Un autre facteur limitant est le chauffage, indispensable pour catalyser la réaction et augmenter le rendement. Pour éviter la dénaturation du peptide, une température inférieure à 100°C est préconisée. Au-delà, le produit ne s'adsorbe pas correctement sur la colonne de purification et une perte est observée (129). Un essai de chauffage par des micro-ondes a montré une diminution du temps de marquage d'un facteur 5 à 10 selon le solvant (46). Les volumes utilisés sont très variable d'un auteur à l'autre. Néanmoins, dans le cadre d'une utilisation en clinique, ils seront dépendants de la concentration finale en peptide.

III.A.1.b Les tampons réactionnels

Le tampon de réaction est un facteur important dans le rendement de marquage et l'AS du produit. Son rôle est de fixer le pH lors de la réaction. Pour cela, les auteurs utilisent des tampons dont la propriété principale est de conserver un pH constant lors d'un apport faible d'acide ou de base. Leur concentration dépendra du pH de l'éluat et donc du type de pré-purification que l'éluat aura préalablement subi.

L'acétate de sodium a été proposé pour sa parfaite innocuité chez l'homme et pour son utilisation fréquente dans la synthèse de médicament.

Si l'éluat est en acétone / HCl, l'eau sera préférée à l'acétate de sodium car le pH de la solution est déjà à 3,5.

Une compétition entre le sodium du solvant et le Ga a été décrite (113). Le choix s'est donc porté sur un tampon non ionique, l'acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazine éthane sulfonique (HEPES). Ce tampon a montré une action favorable autant sur le rendement de marquage que sur l'AS du produit (46,149). Les temps de réaction, la quantité de peptides ont été fortement diminués (46,130).

Il est à noter qu'un essai avec de l'acétate d'ammonium a été publié par Chakravarty et al (114). Malgré une très grande pureté du produit, l'AS est faible à 21 MBq/ nmol. La faible concentration de la solution en peptide peut expliquer ce résultat décevant. D'autres études devront donc être réalisées.

De Blois et al. bloquent la réaction par l'ajout d'éthanol dans la solution en fin de synthèse (130).

Ils ajoutent également de l'acide ascorbique (anti oxydant qui empêche la radiolyse) et de la méthionine (protecteur).

L'AS du produit fini est relativement identique pour tous les auteurs à 50 MBq / nmol donc bien inférieure à l'AS théorique (149). Breeman et al. obtiennent une AS de 1 GBq / nmol (132). Cependant, cette valeur calculée par des tests *in vitro* avec du Ga-67 ne reflète pas les conditions de réaction avec un éluat de Ga-68 dans lequel résident des contaminants métalliques.

III.A.1.c Les peptides

Le Ga et le DOTA se fixant dans un rapport 1 pour 1, la quantité de peptide utilisée et sa concentration dans la solution réactionnelle vont donc naturellement influencer le rendement de marquage. Les auteurs s'accordent sur une concentration de 10^{-3} M finale dans la solution. Ceci conditionne le volume de réaction qui pourra varier entre 0,7 mL et 5 mL selon la masse de produit présent dans le conditionnement commercial (152). Plusieurs auteurs proposent une quantité minimum de 14 nmol de peptides. En dessous, le phénomène d'adsorption des molécules sur le verre est pour eux trop important (128,149). Dans ce cas, les rendements de marquages sont de 75-95 %.

Velikyan et al. obtiennent des rendement de marquage de plus de 98 % grâce à leur système de micro-onde avec des quantités de peptides de l'ordre de la nanomole.

De façon consensuelle, les auteurs s'accordent sur une quantité de peptide à marquer de 20 à 40 nmol soit pour le DOTA-NOC une masse de 30 à 60 µg. Selon EANM, une injection de 100 à 300 MBq de MRP est préconisée (84). Dans ce cas, pour une AS de 50 MBq / nmol, la quantité de peptide sera au maximum de 6 nmol soit 9 µg pour le DOTA-NOC. La monographie donne une quantité de peptide maximale par dose injectée de 50 µg. Cette valeur permet donc de valider une synthèse même si une forte diminution de l'AS est observée notamment avec le vieillissement du générateur (113).

III.A.2 La purification du produit marqué

Une étape de purification du produit fini par une colonne chromatographique en phase inverse de silice greffée communément appelée C18 permet d'obtenir des rendements supérieurs à 90 %. Après passage du milieu réactionnel sur la colonne, un ou plusieurs rinçages permettent d'éliminer les formes ioniques du Ga-68, qui n'a pas réagi, du Ge-68 et des impuretés métalliques éventuellement résiduels après la pré purification de l'éluat (153). Les peptides marqués seront ensuite élués par l'éthanol. Les formes colloïdales du Ga qui se sont créées lors de l'augmentation du pH resteront fixées à la colonne (149).

Afin de respecter la limite du taux d'éthanol selon les recommandations ICH, Meyer et al avait suggéré une évaporation complète de l'éthanol par chauffage puis une redissolution du produit dans le NaCl. Cette étape, augmentant le temps de synthèse de 6 min et entraînant une perte de produit, peut expliquer le faible rendement du marquage qui n'était que de 55 %. Un compromis aboutissant à la monographie a été adopté par la plupart des auteurs et consiste à diluer l'éluat de faible volume dans un grand volume de NaCl 0,9 % (128–130,149).

Toutefois, cette étape de purification ne paraît pas obligatoire puisque certains auteurs ayant obtenu une pureté du peptide marqué après synthèse supérieure à 95 % ne l'utilisent pas (46,114,132).

Pour finir, la stérilisation par un filtre 0,22 µm est toujours la méthode employée avant la mise en conditionnement final du produit fini.

III.B Les contrôles qualité

III.B.1 La monographie de l'édotréotide marqué au Ga-68 injectable

Depuis les premières utilisations des DOTA-peptides, les contrôles qualité ont beaucoup évolué. Le principal but de ces recherches était l'amélioration du temps de contrôle afin de libérer le produit plus rapidement. Aujourd'hui, une monographie du DOTA-TOC ou édotréotide marqué au Ga-68 a été publiée par la PhE. Les contrôles qualité réalisés pour la libération du produit doivent tous être issus de ce texte ou prouver leur équivalence (154). Les critères qualités sont résumés dans le tableau 14. Il est important de souligner

que cette monographie sert également de référence pour les autres analogues de la somatostatine bien que, pour les contrôles d'identification et de pureté radiochimique, les temps de rétention par chromatographie liquide haute performance (CLHP) doivent être adaptés pour chaque peptide.

La solution doit contenir entre 90 et 110 % de la radioactivité mentionnée sur l'étiquette à la date et heure de son édition. La quantité de peptides injectés est de 50 µg au maximum par dose injectée.

	Méthodes	Résultats
Caractères organoleptiques	Visuelle	Limpide et incolore
Energie du rayonnement	Spectrométrie gamma	0,5 MeV et 1,077 MeV avec observation possible d'un pic de 1,022 MeV
Période du Ga-68	Activimètre	62 - 74 min
Identification du DOTA-TOC	CLHP	Pic de rétention correspondant à celui de la solution de référence
Pureté radionucléidique	Spectrométrie gamma à 0,511 MeV après 48h	Maximum 0,001 % Ge-68 de la radioactivité totale
Pureté radiochimique	CLHP et CCM	68Ga-DOTA-TOC ≥ 91 % Ga libre < à 2% Colloïdes de Ga < à 3 %
Ethanol	Chromatographie gazeuse	Ethanol ≤ à 10 % v / v
HEPES	CCM	HEPES < à 200µg / V ^(b)
Endotoxine ^(a)	-	Endotoxines < 175 UI / V ^(b)
Stérilité ^(a)	-	Le produit doit être stérile

Tableau 14. Résumé de la monographie du 68GaDOTA-TOC injectable

(a) ces tests ne sont pas obligatoires pour la libération du produit

(b) V est le volume maximal pouvant servir à la préparation d'une dose destinée à un seul patient.

III.B.1.a Les solvants résiduels

Comme nous l'avons vu précédemment, l'HEPES peut être utilisé comme tampon de réaction. Cependant, sa toxicité n'a jamais été clairement évaluée. Il est non classé par les ICH et doit être employé avec précaution chez l'homme. La PhE a donc fixée arbitrairement un taux inférieur à 200 µg dans le produit fini (94). Cette limite correspond à la limite de détection du produit par CCM.

De la même manière, la quantité résiduelle d'éthanol est fixée par la PhE à 10 % v/v. Cette limite rejoint celle des ICH qui classent l'éthanol comme un solvant à faible potentiel toxique et limite sa dose journalière à 50 mg (141). Les effets indésirables de l'éthanol aux quantités utilisées dans les MRP ont été décrits par Serdons et al (155). Utilisé comme solvant d'éluat, lors de l'injection, il peut entraîner une douleur et une irritation locale. La dilution de l'éluat qui est en éthanol pur avec un grand volume de

NaCl 0,9 % permet d'obtenir un pourcentage négligeable dans le produit final bien inférieur à 10 % v / v.

III.B.1.b La stérilité et les endotoxines

L'édotréotide marqué au Ga-68 est une préparation injectable. En tant que tel, un test de stérilité selon la monographie générale des préparations parentérales est obligatoire (156). Comme pour les endotoxines, le résultat de ce test n'est pas indispensable pour la libération du produit. Aucune étude publiée n'a pu confirmer l'hypothèse selon laquelle la radioactivité empêche la croissance bactérienne. La justification d'une libération anticipée des MRP est uniquement liée à la période des radionucléides. Les émetteurs de positons ont des périodes radioactives courtes qui ne permettent pas la mise en quarantaine des produits finis durant 14 j, temps nécessaire aux tests de stérilité (157). Pour les endotoxines, un test quantitatif de réaction avec lysat d'amœbocytes de limule est commercialisé. Il rend un résultat en moins de cinq minutes et simplifie le contrôle.

III.B.2 Les contraintes liées aux méthodes de contrôles qualité

Les techniques utilisées pour les contrôles qualité font appel à la CLHP et la chromatographie gazeuse. Elles demandent un matériel coûteux, souvent absent des radiopharmacies et difficile à manipuler en routine. La mise en place d'une activité de synthèse par le Ga-68 est donc limitée par ces outils.

L'identification et le test de pureté de l'édotréotide, en tant que matière première, ne sont pas obligatoires si le fabricant est autorisé à produire les peptides selon les BPF et qu'il fournit un certificat d'analyses.

De façon similaire, la validation du procédé de synthèse peut confirmer que les doses en éthanol soient toujours inférieures à 10 % v / v.

Il n'en est pas de même pour le Ga-68 sous forme libre qui devra être vérifié après chaque production. La CLHP devient dans ce cas indispensable. Les radiopharmacie voulant mettre en place une activité de synthèse avec le Ga-68 seront donc contraintes de posséder ce matériel et de former leur personnel à son utilisation. Ce cas n'est cependant pas isolé. De nombreux MRP doivent normalement être contrôlés par la méthode CHLP. Les radiopharmaciens se sont employés à mettre au point des techniques simples équivalentes à la CHLP et conformes aux recommandations des BPP (158). Il sera indispensable d'adopter une approche similaire pour l'édotréotide marqué au Ga-68.

La stérilité et le contrôle des endotoxines évoqués dans le chapitre précédent demandent également du matériel qui n'est pas courant en radiopharmacie. Une étuve blindée est nécessaire pour l'incubation des milieuxensemencés. Elle sera soit acquise par la radiopharmacie, soit une collaboration devra être mise en place avec le département de bactériologie. Enfin, l'appareil pour le test des endotoxines est également très coûteux et son utilisation dans la radiopharmacie reste très limitée.

III.C Le statut des médicaments produits

Les MRP marqués au Ga-68 ne possèdent pas d'AMM nationales ou européennes. Ils ne rentrent pas dans le cadre de la directive 2004/27/CE portant sur les médicaments à usage humain (159). Ils sont donc définis comme des médicaments expérimentaux radiopharmaceutiques stériles et des préparations magistrales.

A l'hôpital, les textes de référence pour leur fabrication sont les bonnes pratiques de préparation, norme française opposable ainsi que les recommandations sur la fabrication de MRP en petite série éditées par l'EANM (137,160).

Ces médicaments rentrent également dans le cadre plus large des bonnes pratiques cliniques et de la conduite d'essais cliniques à usage humain (161).

Leur fabrication est sous la responsabilité du radiopharmacien après autorisation de l'essai par l'ANSM et l'accord du comité d'éthique.

III.C.1 Exigences sur les matières premières

Les matières premières des MRP marqués au Ga-68 sont considérées comme des substances actives pharmaceutiques et relèvent donc des bonnes pratiques de fabrication des matières premières (136). D'après la norme, elles doivent être contrôlées selon leur monographie avant leur utilisation. Cependant, dans le cas des précurseurs radioactifs à période courte (inférieure à 6h) comme le Ga-68, la PhE prévoit la libération du MRP avant la validation de certains contrôles de la matière première comme la stérilité ou la pureté radionucléidique. Pour cette raison, l'Agence Européenne du Médicament a récemment publié un guide sur les MRP dans lequel elle précise que « pour les radionucléides à période courte pour lequel la libération du MRP peut être anticipée, une

attention spéciale doit être portée sur la pureté des matières premières et ses méthodes de contrôles » (162). L'agence sous-entend une production des matières premières selon les BPF et de façon industrielle avec la délivrance d'un certificat d'analyse.

Actuellement, les générateurs de Ge-68 / Ga-68 n'ont pas ce statut en France. Deux cas sont alors possibles : soit la production selon les BPF a été autorisée dans un autre pays, soit la matière première ne possède aucune autorisation.

Dans le premier cas, le radiopharmacien peut soumettre le certificat aux autorités nationales compétentes pour une reconnaissance mutuelle.

Dans le deuxième, le radiopharmacien doit auditer l'industrie pour vérifier la conformité de la production avec les BPF et contrôler le produit selon sa monographie ou des méthodes validées par les autorités nationales. Cette dernière possibilité était jusqu'à présent le cas général pour le Ga-68 et limitait drastiquement les possibilités de synthèse dans les radiopharmacies.

Aujourd'hui, l'exigence sur les matières premières à usage pharmaceutique est simplifiée si le radiopharmacien utilise le générateur de Eckert et Ziegler. Des demandes de reconnaissance mutuelle auprès de l'ANSM sont d'ailleurs en cours.

III.C.2 Exigences sur les MRP en essai clinique

Si le MRP ne possède pas d'AMM ou d'autorisation de fabrication au niveau national, le produit est classé comme un médicament expérimental. Son autorisation d'utilisation est délivrée par les autorités compétentes après la soumission d'un dossier complet d'essai clinique dans lequel une partie concerne le dossier technique relatif aux produits (DME) et contenant tout un chapitre sur le médicament expérimental. Des informations relatives aux données toxicologiques doivent être également fournies si le produit est injecté à une quantité supérieure au microgramme ce qui est le cas pour les analogues de la somatostatine. Afin de répondre à cette exigence, des industries produisant les vecteurs se sont associés aux producteurs de générateur ou leur distributeur pour mener ces études. Ils proposent un service d'aide à l'écriture du DME et facturent les données toxicologiques aux services investigateurs de l'essai lors de la mise en place de l'activité de production.

Les MRP sont également soumis à des exigences concernant la dosimétrie et de radioprotection du personnel et des patients (163). En France, l'autorité de sûreté nucléaire est donc amenée à statuer sur l'autorisation de l'essai clinique.

IV Les équipements et les locaux

La préparation des MRP est liée à la fois à la radioprotection du personnel/environnement et à la stérilité des produits finis. Pour faire face à cette double contrainte, les BPF et les BPP ont établi des règles claires concernant les locaux et les équipements à utiliser. En termes d'équipement, la préparation des MRP est réalisée dans des enceintes blindées. Les enceintes sont des postes de travail clos et blindés destinés à la fabrication et la manipulation de matières radioactives (164). Elles possèdent un blindage suffisant pour protéger le personnel de la radioactivité et un système de gestion des flux d'air afin de contrôler l'atmosphère dans l'enceinte.

IV.A Les contraintes

IV.A.1 La radioprotection

Les locaux de préparation des MRP sont placés en dépression par rapport à l'environnement extérieur, selon la réglementation en radioprotection (139). Selon les BPP, *« du fait de la nature des radionucléides et des contraintes de radioprotection, le stockage des générateurs et précurseurs est effectué dans un local répondant aux conditions prévues par les textes en vigueur en matière de radioprotection »*. Les locaux sont munis d'un sas d'accès. Les écarts de pressions entre les locaux et le sas doivent être en faveur d'un confinement de la radioactivité dans les locaux de production.

Le système de ventilation de ces locaux doit être indépendant du reste du bâtiment afin d'éviter toute contamination.

Des contrôles de radioprotection doivent être effectués régulièrement dans les locaux de la radiopharmacie. Les locaux ont un zonage réglementé selon le risque d'exposition aux rayonnements ionisants et sont classés comme zone contrôlée verte hormis autour de l'enceinte classé comme zone contrôlée rouge (139).

Les enceintes doivent être suffisamment épaisses pour limiter au maximum l'irradiation du personnel pendant la manipulation de sources radioactives. Le Ga-68

ayant un rayonnement très énergétique, l'épaisseur du blindage doit être de 40 à 50 mm. Il s'agit d'enceintes haute énergie déjà utilisées dans les services qui font de la radiothérapie à l'I-131. Le système de ventilation de chaque enceinte doit être relié à l'extérieur de façon indépendante du reste des locaux.

IV.A.2 La stérilité

La préparation de MRP stériles oblige une classification des locaux et des équipements. Les zones d'atmosphère contrôlée (ZAC) sont des locaux ou des équipements dont la qualité microbiologique et particulaire est maîtrisée. Les limites en particules et en contaminants microbiologiques sont présentés dans les BBP (165). Selon le risque de contamination et le type de procédé de stérilisation, certaines opérations doivent être réalisées dans des classes de ZAC bien déterminés. Il est important de comprendre que l'équipement et l'environnement immédiat sont réglementés. Dans le cas des analogues de la somatostatine marqués au Ga-68, le procédé de stérilisation est une filtration stérilisante. En termes de classe, la préparation doit être réalisée dans une classe A avec un environnement immédiat en classe C. Dans ce cas, soit l'enceinte est en classe A avec des locaux en classe C, soit la synthèse est réalisée par un automate dont le système clos est en classe A et l'enceinte est en classe C. L'étape de filtration stérilisante est forcément réalisée dans une enceinte de classe A dans des locaux classés en C (160).

Afin de respecter cette classe C, différentes contraintes, notamment vestimentaires sont à respecter :

Ces locaux doivent être munis d'un sas d'accès permettant de revêtir une tenue adéquate par le personnel.

Les vêtements doivent être réservés à ces locaux et recouverts d'un survêtement propre. Les chaussures sont uniquement utilisés dans ces locaux ou doivent être recouvertes par des sur-chaussures et le port de charlotte est obligatoire.

Les écarts de pression entre les locaux et les sas doivent exister afin de garantir une qualité de l'air au niveau microbiologique et particulaire. Les zones entre lesquelles il est important de maintenir une différence de pression sont équipées d'un indicateur de pression, si possible relié à un système d'alarme, dont les valeurs sont régulièrement relevées et consignées.

Des contrôles microbiologiques et particuliers des locaux sont effectués et les résultats de ces contrôles sont archivés.

IV.B Les pratiques hospitalières

En pratique, le laboratoire dans lequel est réalisée la production des MRP marqués au gallium 68 doit être en classe C, exigence que n'ont pas toutes les radiopharmacies actuellement car seule la classe D est exigée pour la production aseptique des MRP utilisés en routine. Cela impose en laboratoire à part avec une centrale de traitement d'air et une cascade de pression et donc un coût important.

Les enceintes sont pourvues de deux compartiments séparés et de classes différentes. Le compartiment où est situé le module est en classe C. Il est équipé d'un plateau roulant afin de permettre le lavage de l'enceinte et de l'extérieur du module. L'autre compartiment est en classe A. Un passe plat entre les deux compartiments est possible. L'enceinte doit être conçue sur-mesure pour le module de synthèse. Le cahier des charges doit prendre en compte le type de connectique, les prises électriques, les trous pour les câbles et les arrivés de gaz, l'emplacement pour le solvant d'élution et le générateur, etc.

Actuellement, la réglementation concernant la production automatisée de MRP est en train de changer. Les environnements immédiats qui sont en ZAC de classe C vont devoir être classés en B pour limiter le risque de contamination microbienne dans les enceintes. La présence d'un sas en classe C entre le compartiment de l'enceinte qui sera en classe B et l'extérieur aura donc toute son utilité dans ce contexte.

V L'automatisation

V.A La problématique

L'émission d'une particule β^+ et d'un rayonnement γ de haute énergie limite les manipulations du Ga-68. Afin d'améliorer la radioprotection du personnel, des systèmes de marquage semi automatisés ont été développés sur les phases critiques de la synthèse comme l'élution du générateur ou les étapes de purification (113,128,149). Ces matériels

sont devenus incontournables dans la pratique clinique et ont été optimisés par les industriels pour devenir complètement automatisés (129,153). Ils diffèrent dans les procédés par le choix de l'étape de pré-purification employée et dans leur conception.

Un système automatique ou module est défini comme un appareil électromécanique contrôlé par un logiciel pour effectuer automatiquement une séquence d'opérations nécessaires pour la synthèse, la formulation et / ou la distribution d'un produit radiopharmaceutique (166). Il possède donc une partie mécanique (les pompes, les sondes, les tubulures, etc.) et une partie chimique (les gaz de poussée, les solvants, etc.). Ces appareils sont encadrés par de nombreux textes de référence notamment la PhE, les *Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme* (PIC/S) et les BPF européennes (166–168).

V.B Les différents appareils

Un tableau récapitulant les grandes caractéristiques des automates de synthèse pour le marquage de produits au Ga-68 sont présentés dans le tableau 15.

	Automate de recherche	Automate de clinique
Système	fixe	Fixe ou à cassettes
Protocole de lavage	Obligatoire	Dépendant du système
Système clos	Oui	Oui
Logiciel qualité	Non généralement	Oui toujours
Flexibilité de contrôle du logiciel	Oui	Non
Production BPF	Non	Oui

Tableau 15. Caractéristiques générales des automates de synthèse

V.B.1 Les modules de recherche

Les premiers modules étaient semi-automatisés avec des systèmes simples de vannes et de pompes. Les solvants étaient injectés à la main.

L'automate entièrement piloté par ordinateur où la totalité des séquences est préalablement programmée est beaucoup plus récent (153). Dans ces modules, tout le petit matériel est fixe et réutilisable. Au départ, le réseau de tubulures était accessible et modifiable. Par la suite pour limiter le risque bactérien, les automates sont devenus des systèmes clos (fig. 14). Pour contrebalancer cette limitation, une grande flexibilité dans la programmation a été proposée permettant la modification à volonté des paramètres de séquence pour l'optimisation d'une synthèse. La plupart des industriels se tournent également vers le développement de logiciels qualité qui intègrent un module clinique de traçabilité et de stockages des données.



Figure 14. Photographie d'un module à système fixe et du circuit

Pourtant ces appareils ne sont employés qu'en recherche. Les autorités hésitent à autoriser l'utilisation de ces automates en clinique. Plusieurs raisons peuvent être évoquées. Le premier problème inhérent à ce type d'appareil est le lavage de l'ensemble du circuit. En effet, en utilisation clinique, le radiopharmacien doit prouver qu'aucune contamination croisée entre les différents produits n'est possible (169). Des tests supplémentaires doivent donc être réalisés pour valider les étapes de lavage lors de la qualification de l'appareil. De plus, la réutilisation du petit matériel demande un contrôle de leur résistance vis-à-vis des solvants à long terme. Le radiopharmacien a la responsabilité de donner des temps d'utilisation pour chaque composant. Il doit également vérifier la compatibilité de l'ensemble du système avec les matières premières et la présence d'impuretés métalliques. Enfin, les protocoles incluent obligatoirement une étape de préparation de la synthèse qui est extrêmement longue. Elle consiste notamment à la répartition en seringues des solvants, la vérification de l'ensemble des

tubulaires et la mise en place des réactifs. Pour cela, le personnel a besoin d'une formation solide.

De très nombreux industriels se sont lancés dans le développement de ce type d'automate. Nous pourrions citer le *Modular-lab Pharm Tracer* de Eckert et Ziegler et le *Synchrom R&D* de Raytest.

V.B.2 Les modules cliniques

Les modules cliniques ont été proposés pour la réalisation de productions de médicaments selon les BPF. A l'inverse de la flexibilité extrême dans le contrôle des conditions de synthèse des modules de recherche, tout le procédé de fabrication est bloqué. Les paramètres sont contrôlés en permanence et les données de synthèse sont toutes tracées et stockées. Récemment, des modules à cassettes jetables contenant tout le matériel ont été développés (fig. 15). Le système de cassette est à usage unique et stérile. Le matériel est entièrement préparé, des dates de péremptions sont déjà définies par le fabricant et tout le matériel est certifié compatible avec les matières premières. L'industriel fournit un certificat d'analyse pour chaque lot produit. De plus, les cassettes sont faciles à installer et la durée de l'étape de préparation est très courte.

Néanmoins, ces cassettes coûtent chères et le coût total de la synthèse est augmenté d'autant (94). Le module est restreint à un type de synthèse et ne permet pas de faire de la recherche. L'attractivité de ces automates pour les radiopharmacies, contrebalançant ces désavantages, est le regard favorable des autorités vis-à-vis de ces systèmes à usage unique qui facilitent l'attribution d'une autorisation pour la fabrication de MRP.



Figure 15. Photographie d'un automate à cassette et d'une cassette

Les premiers industriels à avoir proposé des automates BPF pour le Ga-68 étaient en partenariat avec des fournisseurs de générateurs. Ces automates possèdent un système fixe. Ils sont BPF car les industriels proposent des protocoles de lavage validés et un logiciel qualité.

Le plus vendu est le module EluSynthGa68 de IASON en partenariat avec Eckert et Ziegler qui distribuait le générateur Obninsk. IASON est le premier à certifier la synthèse BPF des DOTA-peptides grâce à leur statut d'établissement pharmaceutique. Pour cela, ils ont délégué leur production à ABX qui est le leader mondial dans ce domaine.

Le second, moins connu en France est le Gallelut proposé par Scintomics en partenariat avec IThemba.

ITG propose un module original complètement isolé et utilisable en dehors d'une enceinte, l'IQS GA-68 Fluidic Labeling Module.

Les automates à cassettes sont arrivés sur le marché plus récemment avec notamment une version BPF du module de Eckert et Ziegler. L'entreprise est devenue leader en France. Ils produisent le seul générateur bientôt BPF au niveau national, se sont associés avec ABX pour distribuer le peptide et propose une solution d'automate clinique et recherche par empilement des modules.

Trasis est également en train de développer un module cassette de son système All-In-One. Ils proposent un logiciel de recherche compatible avec une synthèse BPF. Cependant, ils ne proposent pas de générateur et ne possèdent pas d'accord avec ABX ce qui contraint le radiopharmacien à produire un DME complet.

V.C La contrainte de l'automatisation : la validation de l'appareil

La validation du module de synthèse est décrite précisément dans l'annexe 11 des BPF européenne volume 4 (169).

V.C.1 Les différentes étapes

V.C.1.a La qualification d'installation

La qualification d'installation est la première étape. Elle est réalisée lors de la mise en place du matériel. Les BPF précisent que *le matériel, les appareils et les installations techniques doivent être conçus et installés afin de permettre que les interventions, l'entretien et les réparations puissent être effectués de l'extérieur de la zone d'atmosphère contrôlée*. Le radiopharmacien ou l'installateur vérifie que l'appareil est conforme aux cahiers des charges. Il vérifie que l'appareil fonctionne correctement et que tous les documents qualité ont bien été fournis lors de la livraison. Enfin, il contrôle l'environnement après l'installation et requalifie les locaux si besoin.

V.C.1.b La qualification opérationnelle

La qualification opérationnelle est l'étape la plus délicate. Cette qualification concerne toutes les parties du module. Toutes les unités mécaniques devront être vérifiées. Les grandeurs physiques devront être conformes aux caractéristiques techniques. L'ensemble des appareils de mesure, sondes et détecteurs, devront être requalifiés par un contrôle et si besoin calibrés. Le logiciel devra être conforme aux exigences qualité en termes d'accès, de traçabilité et de stockage des données. Enfin, l'ensemble du module devra être qualifié lors d'un essai de fonctionnement.

V.C.1.c La qualification de performance

La qualification de performance est réalisée lors de la validation du procédé de synthèse. L'ensemble du matériel sera alors testé en conditions normales d'utilisation et sera validé par la production de 3 lots. Ces lots devront être fabriqués de façon successive c'est-à-dire avec un délai raisonnable entre chaque production.

V.C.2 L'automatisation à l'hôpital

Les automates sont indispensables à l'activité de marquage au Ga-68. Néanmoins, l'appareillage coûte plus de 30 000 euros et son utilisation est actuellement limitée à cette activité. Les progrès importants réalisés en la matière vont dans le sens d'une modification de la pratique de radiopharmacie. Le personnel devra être formé à ce

nouveau type de procédé et les radiopharmaciens devront avoir une qualification « d'ingénieurs ».

Néanmoins, l'apport d'un module de synthèse est sans conteste une avancée dans le développement de la recherche notamment en radiothérapie interne vectorisée. Les radionucléides utilisés pour ce type de traitement sont très irradiants ce qui justifie que la technique de synthèse de ces MRP soit développée en condition automatisée. Cette nouvelle approche permettra de créer des partenariats entre le service de médecine nucléaire et les autres services médicaux, et devrait aboutir à l'augmentation d'essais cliniques dans ce domaine.

Pour cela, le module ne doit pas être limité à un seul type de synthèse ou au marquage d'un seul radionucléide. Il doit donc être polyvalent avec des possibilités de marquages selon les BPP grâce à des cassettes mais également avoir une partie programmable afin de pouvoir modifier les paramètres de synthèse. Un tel module n'existe pas à l'heure actuelle. Les services ayant une activité de recherche possèdent deux modules, un pour la clinique et un pour la recherche. L'activité n'est donc pas transposable sur des petits centres dont les moyens financiers sont beaucoup plus restreints.

CONCLUSION

La TEP a pris un essor majeur depuis le début des années 2000 dans le diagnostic tumoral mais également en cardiologie, neurologie et dans l'inflammation. L'examen au ^{18}F -FDG est encore coûteux mais son apport diagnostique et pronostique est indéniable. Les protocoles utilisant d'autres dérivés fluorés comme la ^{18}F -choline ou la ^{18}F -DOPA restent encore peu fréquents car ils se limitent à des indications très précises ou pour des maladies rares voir orphelines. Les MRP marqués aux C-11 ou N-13 sont marginaux puisqu'ils ne concernent que les centres ayant à leur disposition un cyclotron dédié à la production hospitalière. L'arrivée de générateurs produisant des émetteurs de positons est une avancée pour l'accessibilité à de nouveaux marqueurs. Le générateur de Ge-68 / Ga-68 est un exemple de ce type de production. Le Ga-68 est un élément ayant une période radioactive relativement courte (68 min) et émettant un rayonnement γ de forte énergie (1,077 MeV). Sa chimie connue depuis les années 50 et les référentiels sur la production du Ge-68 permettent d'aborder plus facilement les recherches sur le marquage de cet isotope. Les projets portent notamment sur de nouveaux chélatants bifonctionnels adaptés à des molécules d'intérêt clinique.

Parallèlement, les études précliniques se sont multipliées dans des domaines très variés. Les essais chez l'homme sont cependant aujourd'hui limités aux analogues de la somatostatine et aux analogues de la bombésine.

L'explication est multifactorielle. Au niveau national, une réticence des autorités de santé à délivrer des autorisations d'utilisation limite son emploi par les services. Cette défiance est liée à la compétition que se livrent les différents groupes de recherche qui empêchent la normalisation des techniques. Chaque équipe teste son procédé de marquage, l'optimise en fonction du générateur, de l'automate, des vecteurs utilisés et du matériel d'imagerie. La récente publication des monographies européennes de l'éluat de Ga-68 et des analogues de la somatostatine radiomarqués semblent être favorable à un déblocage de la situation grâce à l'harmonisation qu'elle impose.

En pratique, plusieurs contraintes devront être évaluées avant la mise en place de l'activité dans le service.

D'une part, le coût lié à l'obligation de locaux en classe C, l'acquisition d'une enceinte blindée haute énergie avec un compartiment en classe A et d'un module de synthèse est un point incontournable.

D'autre part, le choix du générateur est décisif dans le choix du procédé de marquage. En effet, plusieurs types sont à ce jour commercialisés. Leurs différences résident dans la pureté radiochimique du Ge-68 produit et dans la matrice de la colonne où celui-ci est adsorbé. Lors de l'éluat, les contaminants présents dans l'éluat sont différents tant au niveau qualitatif que quantitatif. De ce fait, la conformité de l'éluat de Ga-68 par rapport à sa monographie reste partielle et différente selon le type de générateur. Chacun d'eux imposent donc un procédé de pré-élution. Ce procédé permettant la mise en conformité de l'éluat est réalisé soit par chromatographie anionique, soit par chromatographie cationique. A chaque modification de type générateur, la conformité devra être ré-établie avant son utilisation dans le service.

Enfin pour des raisons de radioprotection, une automatisation complète de la synthèse est obligatoire. Cette nouvelle pratique est une problématique importante en radiopharmacie. Plusieurs automates sont disponibles ou sont en cours de développement. Ils possèdent soit un système de cassette à usage unique soit un système de tubulures lavables. Ces systèmes n'ont pas les mêmes contraintes. Ainsi, les cassettes stériles permettent une préparation conforme aux BPP voir aux BPF. Le risque microbiologique durant le procédé de production devient faible. Elles simplifient le processus qualité de validation. Cependant, elles limitent les possibilités de marquage à des produits déjà commercialisés et adaptés à l'automate. A l'inverse, les automates modulables à système fixe sont intéressants pour la recherche en radiochimie et dans une volonté du service de développer de nouveaux MRP. Par contre, une validation complète du procédé de fabrication est obligatoire et les risques de contaminations microbiennes ou chimiques sont beaucoup plus importants.

C'est pourquoi, il devient indispensable que les industriels s'associent à l'effort réalisé par les structures publiques. Des trousseaux contenant les matières premières stériles ainsi que des générateurs possédant des certificats de conformité faciliteraient le travail du radiopharmacien dans la rédaction du dossier médicament, indispensable pour les MRP ayant un statut de médicament expérimental.

Sans cette coopération, l'activité de radiopharmacie avec le Ga-68 restera difficile à mettre en place, fastidieuse sur le plan technique et limitée à des centres où le personnel bénéficiera d'un haut niveau de formation.

BIBLIOGRAPHIE

1. nombres de TEP en France [Internet]. [cité 2012 juill 5]. Available de: <http://lesdonnees.e-cancer.fr/les-fiches-de-synthese/84-plateaux-techniques-imagerie.html>
2. **J MC-TAMS**. Interaction des rayonnements avec la matière [Internet]. [cité 2012 juin 14]. Available de: <http://doccismef.chu-rouen.fr/html/nl/09/009107.html>
3. **International Atomic Energy Agency**. Planning a Clinical PET centre. 2010; Human Health Series No. 11, vienna.
4. **Willemar.a**. Anon - Nobel Lectures - Chemistry (1922-1941). Annales De Chimie France. 1966;1(5-6):256.
5. **International Atomic Energy Agency**. radioisotope products and their availability. Nuclear Technologies Review. 2010;36-8.
6. **International Atomic Energy Agency**. Cyclotron Produced Radionuclides: Physical Characteristics and Production Methods. Technical reports series no.468, vienna. 2009;
7. **Firestone R, Browne E**. Table of Radioactive Isotopes. Abstr. Pap. Am. Chem. Soc. 1985;190(SEP).
8. **Schlyer DJ**. Production of Radionuclides in Accelerators. In: Welch MJ, Redvanly CS, éditeurs. Handbook of Radiopharmaceuticals. John Wiley & Sons, Ltd; 2005. p. 1-70.
9. **Stang L, Tucker W, Doering R, Weiss A, Greene M, Banks H**. Die Entwicklung Von Methoden Zur Erzeugung Kurzlebiger Radioisotope. Angew. Chem.-Int. Edit. 1958;70(3):77-77.
10. **Tucker W**. Radioisotopic Cows. J. Nucl. Med. 1960;1(1):60.
11. **Lieser K**. Chemical Viewpoints for Developing Radionuclide Generators. Radiochim. Acta. 1976;23(2):57-78.
12. **Vertes A, Nagy S, Klencsar Z, Lovas RG, Rosch F**. Handbook of Nuclear Chemistry. 2nd Revised edition. Springer-Verlag New York Inc.; 2010.
13. **Sharkey RM, Karacay H, Goldenberg DM**. Improving the treatment of non-Hodgkin lymphoma with antibody-targeted radionuclides. Cancer. 2010;116(4):1134-45.
14. **Kraeber-Bodéré F, Salaun P-Y, Oudoux A, Goldenberg DM, Chatal J-F, Barbet J**. Pretargeted radioimmunotherapy in rapidly progressing, metastatic, medullary thyroid cancer. Cancer. 2010;116(4):1118-25.

15. **AAA.** Gluscan 600 MBq / mL, solution injectable. Résumé des caractéristiques produit. 2009.
16. **Pauwels EK, Sturm EJ, Bombardieri E, Cleton FJ, Stokkel MP.** Positron-emission tomography with [18F]fluorodeoxyglucose. Part I. Biochemical uptake mechanism and its implication for clinical studies. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 2000;126(10):549-59.
17. **Herrmann K, Benz MR, Krause BJ, Pomykala KL, Buck AK, Czernin J.** (18)F-FDG-PET/CT in evaluating response to therapy in solid tumors: where we are and where we can go. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2011;55(6):620-32.
18. **Adams S, Baum R, Rink T, Schumm-Drager PM, Usadel KH, Hor G.** Limited value of fluorine-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography for the imaging of neuroendocrine tumours. *Eur. J. Nucl. Med.* 1998;25(1):79-83.
19. **Noble JM, Scarneas N.** Chapter 7 Application of Pet Imaging to Diagnosis of Alzheimer's Disease and Mild Cognitive Impairment1. *Neurobiology of Dementia.* Academic Press; 2009. p. 133-49.
20. **Price DT, Coleman RE, Liao RP, Robertson CN, Polascik TJ, deGrado TR.** Comparison of [F-18]fluorocholine and [F-18]fluorodeoxyglucose for positron emission tomography of androgen dependent and androgen independent prostate cancer. *J. Urol.* 2002;168(1):273-80.
21. **IASON GMBH.** IASOCHOLINE 1 GBq / mL, solution injectable. Résumé des caractéristiques produit. 2010.
22. **IASON GMBH.** IASOdopa 0,3 GBq / mL, solution à diluer injectable. Résumé des caractéristiques produit. 2010.
23. **Ericson K, Lilja A, Bergström M, Collins VP, Eriksson L, Ehrin E, et al.** Positron emission tomography with ([11C]methyl)-L-methionine, [11C]D-glucose, and [68Ga]EDTA in supratentorial tumors. *J Comput Assist Tomogr.* 1985;9(4):683-9.
24. **Brix G, Lechel U, Glatting G, Ziegler SI, Münzing W, Müller SP, et al.** Radiation exposure of patients undergoing whole-body dual-modality 18F-FDG PET/CT examinations. *J. Nucl. Med.* 2005;46(4):608-13.
25. **Downs AJ.** Chemistry of Aluminium, Gallium, Indium, and Thallium. Springer; 1993.
26. **Kulprathipanja S, Hnatowich DJ.** A method for determining the pH stability range of gallium radiopharmaceuticals. *Int J Appl Radiat Isot.* 1977;28(1-2):229-33.
27. **Maecke HR, André JP.** 68Ga-PET radiopharmacy: A generator-based alternative to 18F-radiopharmacy. *Ernst Schering Res. Found. Workshop.* 2007;(62):215-42.
28. **Du Moulinet d'Hardemare A, Jarjays O.** Gallium, Indium, Thallium. Elément de post-transition du groupe 13. *Radiopharmaceutiques: Chimie des radiotraceurs et*

- applications biologiques. Presses Universitaires de Grenoble (PUG); 1999. p. 232-46.
29. **Covidien imaging.** Citrate de Gallium (^{67}Ga), solution injectable. Résumé des caractéristiques produit. 2009.
 30. **International Atomic Energy Agency.** Production of long lived parent radionuclides for generators: ^{68}Ge , ^{82}Sr , ^{90}Sr and ^{188}W . Radioisotopes and Radiopharmaceuticals series No. 2. 2010;
 31. **Pao PJ, Silvester DJ, Waters SL.** A new method for the preparation of ^{68}Ga -generators following proton bombardment of gallium oxide targets. Journal of Radioanalytical Chemistry. 1981;64(1-2):267-72.
 32. **Horiguchi T, Kumahora H, Inoue H, Yoshizawa Y.** Excitation-Functions of $\text{Ge}(p,xnyp)$ Reactions and Production of ^{68}Ge . International Journal of Applied Radiation and Isotopes. 1983;34(11):1531-5.
 33. **International Atomic Energy Agency.** Charged Particle Cross-section Database for Medical Radioisotope Production: Diagnostic Radioisotopes and Monitor Reactions. IAEA; 2001.
 34. **Naidoo C, van der Walt TN, Raubenheimer HG.** Cyclotron production of ^{68}Ge with a Ga_2O_3 target. J. Radioanal. Nucl. Chem. 2002;253(2):221-5.
 35. **Aardaneh K, van der Walt TN.** Ga_2O_3 for target, solvent extraction for radiochemical separation and SnO_2 for the preparation of a $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry. 2006;268(1):25-32.
 36. **Rösch F, Knapp FF.** Key Examples of Generator-Derived Positron-Emitting Radionuclides. Handbook of Nuclear Chemistry. 2nd Revised edition. Springer-Verlag New York Inc.; 2010. p. 1950-5.
 37. **Razbash AA, Sevastianov Y, Krasnow N, Leonov A.** Germanium-68 row of products. Conf. of Isotopes. Bologna. 2005;147-51.
 38. **van der Walt TN, Vermeulen C.** Thick targets for the production of some radionuclides and the chemical processing of these targets at iThemba LABS. Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. Sect. A-Accel. Spectrom. Dect. Assoc. Equip. 2004;521(1):171-5.
 39. **Medvedev DG, Mausner LF, Meinken GE, Kurzak SO.** Recovery of ^{65}Zn from waste solutions from gallium targets at Brookhaven Linac Isotope Producer. J. Radioanal. Nucl. Chem. 2009;280(1):137-9.
 40. **Fassbender M, Bach H, Kitten J, Nortier FM, Taylor W.** Radioisotope Production at the Los Alamos National Laboratory. J. Label. Compd. Radiopharm. 2010;53(5-6):332-5.

41. **Mirzadeh S, Lambrecht R.** Radiochemistry of germanium. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry.* 1996;202(1):7-102.
42. **Schuhmacher J, Maier-Borst W.** A new ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga radioisotope generator system for production of ⁶⁸Ga in dilute HCl. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes.* 1981;32(1):31-6.
43. **Harris W, Pecoraro V.** Thermodynamic Binding Constants for Gallium Transferrin. *Biochemistry.* 1983;22(2):292-9.
44. **Biechelin-Chassel M-L.** Développement du radiomarquage de protéines à l'aide de Technétium et de Gallium. Mise au point sur les immunoglobulines et application à l'annexines A5 en vue de détecter de la mort cellulaire in vivo. [Th Doctorat]. Claude Bernard, Lyon 1; 2008.
45. **Green MA, Welch MJ.** Gallium radiopharmaceutical chemistry. *International Journal of Radiation Applications and Instrumentation. Part B. Nuclear Medicine and Biology.* 1989;16(5):435-48.
46. **Velikyan I, Beyer GJ, Långström B.** Microwave-supported preparation of (⁶⁸Ga) bioconjugates with high specific radioactivity. *Bioconjug. Chem.* 2004;15(3):554-60.
47. **Zoller F, Riss PJ, Montforts F-P, Rösch F.** Efficient post-processing of aqueous generator eluates facilitates ⁶⁸Ga-labelling under anhydrous conditions. *Radiochimica Acta.* 2010 mars;98(3):157-60.
48. **Fani M, André JP, Maecke HR.** ⁶⁸Ga-PET: a powerful generator-based alternative to cyclotron-based PET radiopharmaceuticals. *Contrast Media & Molecular Imaging.* 2008;3(2):53-63.
49. **Couturier O, Lacoeyille F, Lefebvre C, Hindre F, Vervueren L, Bouchet F, et al.** Imagerie phénotypique et peptides radiomarqués au gallium-68 : au-delà des analogues de la somatostatine. *Médecine Nucléaire.* 2010;34(5):299-306.
50. **Hofmann M, Maecke H, Börner R, Weckesser E, Schöffski P, Oei L, et al.** Biokinetics and imaging with the somatostatin receptor PET radioligand (⁶⁸Ga)-DOTATOC: preliminary data. *Eur J Nucl Med.* 2001;28(12):1751-7.
51. **Heppeler A, Froidevaux S, Mäcke HR, Jermann E, Béhé M, Powell P, et al.** Radiometal-Labelled Macrocyclic Chelator-Derivatized Somatostatin Analogue with Superb Tumour-Targeting Properties and Potential for Receptor-Mediated Internal Radiotherapy. *Chemistry – A European Journal.* 1999;5(7):1974-81.
52. **Zeglis BM, Lewis JS.** A practical guide to the construction of radiometallated bioconjugates for positron emission tomography. *Dalton Trans.* 2011;40(23):6168-95.
53. **Velikyan I, Maecke H, Langstrom B.** Convenient preparation of ⁶⁸Ga-based PET-radiopharmaceuticals at room temperature. *Bioconjug. Chem.* 2008;19(2):569-73.

54. **Eisenwiener KP, Prata MIM, Buschmann I, Zhang HW, Santos AC, Wenger S, et al.** NODAGATOC, a new chelator-coupled somatostatin analogue labeled with [Ga-67/68] and [In-111] for SPECT, PET, and targeted therapeutic applications of somatostatin receptor (hsst2) expressing tumors. *Bioconjugate Chem.* 2002;13(3):530-41.
55. **Jeong JM, Hong MK, Chang YS, Lee Y-S, Kim YJ, Cheon GJ, et al.** Preparation of a promising angiogenesis PET imaging agent: Ga-68-labeled c(RGDyK)-isothiocyanatobenzyl-1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid and feasibility studies in mice. *J. Nucl. Med.* 2008;49(5):830-6.
56. **Eplattenier FL, Murase I, Martell AE.** New Multidentate Ligands. VI. Chelating Tendencies of N,N'-Di(2-hydroxybenzyl)ethylenediamine-N,N'-diacetic Acid1. *J. Am. Chem. Soc.* 1967;89(4):837-43.
57. **Schuhmacher J, Klivényi G, Hull WE, Matys R, Hauser H, Kalthoff H, et al.** A bifunctional HBED-derivative for labeling of antibodies with 67Ga, 111In and 59Fe. Comparative biodistribution with 111In-DPTA and 131I-labeled antibodies in mice bearing antibody internalizing and non-internalizing tumors. *Int J Rad Appl Instrum B.* 1992;19(8):809-24.
58. **Zöller M, Schuhmacher J, Reed J, Maier-Borst W, Matzku S.** Establishment and characterization of monoclonal antibodies against an octahedral gallium chelate suitable for immunoscintigraphy with PET. *J. Nucl. Med.* 1992;33(7):1366-72.
59. **Eder M, Waengler B, Knackmuss S, LeGall F, Little M, Haberkorn U, et al.** Tetrafluorophenolate of HBED-CC: a versatile conjugation agent for Ga-68-labeled small recombinant antibodies. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2008;35(10):1878-86.
60. **Eder M, Krivoshein AV, Backer M, Backer JM, Haberkorn U, Eisenhut M.** ScVEGF-PEG-HBED-CC and scVEGF-PEG-NOTA conjugates: comparison of easy-to-label recombinant proteins for [Ga-68]PET imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature. *Nucl. Med. Biol.* 2010;37(4):405-12.
61. **Baudin E.** les tumeurs neuro-endocrines [Internet]. orphanet; 2000 [cité 2012 mai 10]. Available de: <http://www.orpha.net/data/patho/FR/fr-TNE.pdf>
62. **Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, et al.** One hundred years after « carcinoid »: epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J. Clin. Oncol.* 2008;26(18):3063-72.
63. **Anlauf M.** Neuroendocrine neoplasms of the gastroenteropancreatic system: pathology and classification. *Horm. Metab. Res.* 2011;43(12):825-31.
64. **Reubi JC.** Neuropeptide receptors in health and disease: the molecular basis for in vivo imaging. *J. Nucl. Med.* 1995;36(10):1825-35.

65. **Treglia G, Castaldi P, Villani MF, Perotti G, de Waure C, Filice A, et al.** Comparison of 18F-DOPA, 18F-FDG and 68Ga-somatostatin analogue PET/CT in patients with recurrent medullary thyroid carcinoma. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2012;39(4):569-80.
66. **Kwekkeboom D, Krenning E, Lebtahi R.** ENETS Consensus guidelines for the Standards of Care in Neuroendocrine Tumors: Peptide receptor radionuclide therapy with radiolabeled somastostatin analogs. *Neuro-endocrinology.* 2009;90:220-6.
67. **Kowalski J, Henze M, Schuhmacher J, Mäcke HR, Hofmann M, Haberkorn U.** Evaluation of positron emission tomography imaging using [68Ga]-DOTA-D Phe(1)-Tyr(3)-Octreotide in comparison to [111In]-DTPAOC SPECT. First results in patients with neuroendocrine tumors. *Mol Imaging Biol.* 2003;5(1):42-8.
68. **Buchmann I, Henze M, Engelbrecht S, Eisenhut M, Runz A, Schäfer M, et al.** Comparison of 68Ga-DOTATOC PET and 111In-DTPAOC (Octreoscan) SPECT in patients with neuroendocrine tumours. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2007;34(10):1617-26.
69. **Gabriel M, Decristoforo C, Kendler D, Dobrozemsky G, Heute D, Uprimny C, et al.** Ga-68-DOTA-Tyr(3)-octreotide PET in neuroendocrine tumors: Comparison with somatostatin receptor scintigraphy and CT. *J. Nucl. Med.* 2007;48(4):508-18.
70. **Putzer D, Gabriel M, Henninger B, Kendler D, Uprimny C, Dobrozemsky G, et al.** Bone metastases in patients with neuroendocrine tumor: 68Ga-DOTA-Tyr3-octreotide PET in comparison to CT and bone scintigraphy. *J. Nucl. Med.* 2009;50(8):1214-21.
71. **Kroiss A, Putzer D, Uprimny C, Decristoforo C, Gabriel M, Santner W, et al.** Functional imaging in pheochromocytoma and neuroblastoma with 68Ga-DOTA-Tyr 3-octreotide positron emission tomography and 123I-metaiodobenzylguanidine. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2011;38(5):865-73.
72. **Thorwarth D, Henke G, Müller A-C, Reimold M, Beyer T, Boss A, et al.** Simultaneous 68Ga-DOTATOC-PET/MRI for IMRT Treatment Planning for Meningioma: First Experience. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics.* 2011;81(1):277-83.
73. **Antunes P, Ginja M, Zhang H, Waser B, Baum RP, Reubi JC, et al.** Are radiogallium-labelled DOTA-conjugated somatostatin analogues superior to those labelled with other radiometals? *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2007;34(7):982-93.
74. **Fanti S, Ambrosini V, Tomassetti P, Castellucci P, Montini G, Allegri V, et al.** Evaluation of unusual neuroendocrine tumours by means of Ga-68-DOTA-NOC PET. *Biomed. Pharmacother.* 2008;62(10):667-71.

75. **Ambrosini V, Campana D, Bodei L, Nanni C, Castellucci P, Allegri V, et al.** 68Ga-DOTANOC PET/CT clinical impact in patients with neuroendocrine tumors. *J. Nucl. Med.* 2010;51(5):669-73.
76. **Ambrosini V, Campana D, Tomassetti P, Fanti S.** ⁶⁸Ga-labelled peptides for diagnosis of gastroenteropancreatic NET. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2012;39 Suppl 1:S52-60.
77. **Castellucci P, Pou Ucha J, Fuccio C, Rubello D, Ambrosini V, Montini GC, et al.** Incidence of increased 68Ga-DOTANOC uptake in the pancreatic head in a large series of extrapancreatic NET patients studied with sequential PET/CT. *J. Nucl. Med.* 2011;52(6):886-90.
78. **Reubi JC, Waser B, Schaer JC, Laissue JA.** Somatostatin receptor sst1-sst5 expression in normal and neoplastic human tissues using receptor autoradiography with subtype-selective ligands. *Eur J Nucl Med.* 2001;28(7):836-46.
79. **Srirajaskanthan R, Kayani I, Quigley AM, Soh J, Caplin ME, Bomanji J.** The role of 68Ga-DOTATATE PET in patients with neuroendocrine tumors and negative or equivocal findings on 111In-DTPA-octreotide scintigraphy. *J. Nucl. Med.* 2010;51(6):875-82.
80. **Naji M, Zhao C, Welsh SJ, Meades R, Win Z, Ferrarese A, et al.** Ga-68-DOTA-TATE PET vs. I-123-MIBG in Identifying Malignant Neural Crest Tumours. *Mol. Imaging. Biol.* 2011;13(4):769-75.
81. **Alonso O, Gambini JP, Lago G, Gaudiano J, Quagliata A, Engler H.** In Vivo Visualization of Somatostatin Receptor Expression With Ga-68-DOTA-TATE PET/CT in Advanced Metastatic Prostate Cancer. *Clin. Nucl. Med.* 2011;36(11):1063-4.
82. **Sainz-Esteban A, Prasad V, Schuchardt C, Zachert C, Manuel Carril J, Baum RP.** Comparison of sequential planar Lu-177-DOTA-TATE dosimetry scans with Ga-68-DOTA-TATE PET/CT images in patients with metastasized neuroendocrine tumours undergoing peptide receptor radionuclide therapy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2012;39(3):501-11.
83. **Traub-Weidinger T, Von Guggenberg E, Dobrozemsky G, Kendler D, Eisterer W, Bale R, et al.** Preliminary experience with Ga-68-DOTA-lanreotide positron emission tomography. *Q. J. Nucl. Med. Mol. Imag.* 2010;54(1):52-60.
84. **Virgolini I, Ambrosini valentina, Bomanji J, Fanti S, Gabriel M, Papathanasiou N, et al.** Procedure Guidelines For PET/CT Tumour Imaging with 68Ga-DOTAconjugated peptides: 68Ga-DOTA-TOC, 68Ga-DOTA-NOC, 68Ga-DOTA-TATE. *EANM*; 2010.
85. **Pettinato C, Sarnelli A, Di Donna M, Civollani S, Nanni C, Montini G, et al.** Ga-68-DOTANOC: biodistribution and dosimetry in patients affected by neuroendocrine tumors. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2008;35(1):72-9.

86. **Hartmann H, Zöphel K, Freudenberg R, Oehme L, Andreeff M, Wunderlich G, et al.** [Radiation exposure of patients during 68Ga-DOTATOC PET/CT examinations]. *Nuklearmedizin*. 2009;48(5):201-7.
87. **Koukouraki S, Strauss LG, Georgoulas V, Eisenhut M, Haberkorn U, Dimitrakopoulou-Strauss A.** Comparison of the pharmacokinetics of 68Ga-DOTATOC and [18F]FDG in patients with metastatic neuroendocrine tumours scheduled for 90Y-DOTATOC therapy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2006;33(10):1115-22.
88. **Eberlein U, Lassmann M.** Dosimetry of [68Ga]-labeled compounds. *Applied Radiation and Isotopes*. In Press;
89. **Lassmann M, Chiesa C, Flux G, Bardiès M.** EANM Dosimetry Committee guidance document: good practice of clinical dosimetry reporting. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2011;38(1):192-200.
90. **Von Falck C, Boerner AR, Galanski M, Knapp WH.** Neuroendocrine tumour of the mediastinum: fusion of F-18-FDG and Ga-68-DOTATOC PET/CT datasets demonstrates different degrees of differentiation. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2007;34(5):812-812.
91. **Ambrosini V, Tomassetti P, Castellucci P, Campana D, Montini G, Rubello D, et al.** Comparison between Ga-68-DOTA-NOC and F-18-DOPA PET for the detection of gastro-entero-pancreatic and lung neuro-endocrine tumours. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2008;35(8):1431-8.
92. **Kayani I, Bomanji JB, Groves A, Conway G, Gacinovic S, Win T, et al.** Functional Imaging of neuroendocrine tumors with combined PET/CT using (68)Ga-DOTATATE (Dota-DPhe(1),Tyr(3)-octreotate) and (18)F-FDG. *Cancer*. 2008;112(11):2447-55.
93. **Haug A, Auernhammer CJ, Waengler B, Tiling R, Schmidt G, Goeke B, et al.** Intraindividual comparison of Ga-68-DOTA-TATE and F-18-DOPA PET in patients with well-differentiated metastatic neuroendocrine tumours. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2009;36(5):765-70.
94. **Decristoforo C, Pickett RD, Verbruggen A.** Feasibility and availability of Ga-68-labelled peptides. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2012;39:31-40.
95. **Rindi G.** The ENETS guidelines: the new TNM classification system. *Tumori*. 2010;96(5):806-9.
96. **Hofman MS, Kong G, Neels OC, Eu P, Hong E, Hicks RJ.** High management impact of Ga-68 DOTATATE (GaTate) PET/CT for imaging neuroendocrine and other somatostatin expressing tumours. *J Med Imaging Radiat Oncol*. 2012;56(1):40-7.
97. **Nama V, Kozlowski JK, Hamvas A.** Measurement of protein flux with positron emission tomography in neonates. *Arch. Dis. Child. Fetal Neonatal Ed*. 1999;80(1):F26-29.

98. **Reardan DT, Meares CF, Goodwin DA, McTigue M, David GS, Stone MR, et al.** Antibodies against metal chelates. *Nature*. 1985;316(6025):265-8.
99. **Somasundaram C, Matzku S, Schuhmacher J, Zöller M.** Development of a bispecific monoclonal antibody against a gallium-67 chelate and the human melanoma-associated antigen p97 for potential use in pretargeted immunoscintigraphy. *Cancer Immunol. Immunother.* 1993;36(5):337-45.
100. **Goldenberg DM, Chatal J-F, Barbet J, Boerman O, Sharkey RM.** Cancer Imaging and Therapy with Bispecific Antibody Pretargeting. *Update Cancer Ther.* 2007;2(1):19-31.
101. **Kraeber-Bodéré F, Salaun P-Y, Ansquer C, Drui D, Mirallié E, Faivre-Chauvet A, et al.** Pretargeted radioimmunotherapy (pRAIT) in medullary thyroid cancer (MTC). *Tumour Biol.* 2012;33(3):601-6.
102. **Schuhmacher J, Kaul S, Klivényi G, Junkermann H, Magener A, Henze M, et al.** Immunoscintigraphy with positron emission tomography: gallium-68 chelate imaging of breast cancer pretargeted with bispecific anti-MUC1/anti-Ga chelate antibodies. *Cancer Res.* 2001;61(9):3712-7.
103. **Baum RP, Prasad V, Frischknecht M, Maecke H, Reubi J.** Bombesin receptor imaging in various tumors: First results of Ga-68 AMBA PET/CT. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2007;34:S193-S193.
104. **Dimitrakopoulou-Strauss A, Hohenberger P, Haberkorn U, Maecke H, Eisenhut M, Strauss LG.** 68Ga-labeled Bombesin (68Ga-BZH3) studies in patients with gastrointestinal stromal tumors (GIST) and comparison to 18F-FDG. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2007;34:S142-S142.
105. **Miettinen M, Blay J, Sobin LH.** Pathology and Genetics of the Digestive System. World Health Organization classification of Tumours. IARC press. Hamilton SR, Aaltonen LA; 2000. p. 62-5.
106. **Strauss LG, Koczan D, Seiz M, Tuettenberg J, Schmieder K, Pan L, et al.** Correlation of the Ga-68-Bombesin Analog Ga-68-BZH3 with Receptors Expression in Gliomas as Measured by Quantitative Dynamic Positron Emission Tomography (dPET) and Gene Arrays. *Mol. Imaging. Biol.* 2012;14(3):376-83.
107. **Gleason GI.** A positron cow. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes.* 1960;8(2-3):90-4.
108. **Ehrhardt GJ, Welch MJ.** A New Germanium-68/Gallium-68 Generator. *Journal of Nuclear Medicine.* 1978;19(8):925-929.
109. **Grant P, O'Brien H, Mirzadeh S, Whipple R.** Premature Evaluation of a Ge-68-]Ga-68 Distillation Generator. *J. Nucl. Med.* 1980;21(7):702-3.

110. **Shehata MM, Scholten B, Spahn I, Qaim SM, Coenen HH.** Radiochemical studies relevant to the separation of ^{68}Ga and ^{68}Ge . *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 2011;288(3):887-93.
111. **Burgot G, Burgot J-L.** Méthodes instrumentales d'analyse chimique et applications : Méthodes chromatographiques, électrophorèses et méthodes spectrales. Tec & Doc Lavoisier; 2002.
112. **Fritz JS, Gjerde DT.** Ion Chromatography. 4th completely revised and enlarged ed. Wiley-VCH Verlag GmbH; 2009.
113. **Meyer G-J, Mäcke H, Schuhmacher J, Knapp WH, Hofmann M.** ^{68}Ga -labelled DOTA-derivatised peptide ligands. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2004;31(8):1097-104.
114. **Chakravarty R, Shukla R, Ram R, Tyagi AK, Dash A, Venkatesh M.** Development of a nano-zirconia based $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ generator for biomedical applications. *Nucl. Med. Biol.* 2011;38(4):575-83.
115. **Yano Y, Anger H. A** Gallium-68 Positron Cow for Medical Use. *J. Nucl. Med.* 1964;5(6):485-7.
116. **Arino H, Skraba WJ, Kramer HH.** A new $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ radioisotope generator system. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes*. 1978;29(2):117-20.
117. **Kopecky P, Mudrova B.** GE-68-GA-68 genrator for production of Ga-68 in an ionic form. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*. 1974;25(6):263-8.
118. **Hnatowich DJ.** A method for the preparation and quality control of ^{68}Ga radiopharmaceuticals. *J. Nucl. Med.* 1975;16(8):764-8.
119. **Loch C, Maziere B, Comar D.** New Generator for Ionic Ga-68. *J. Nucl. Med.* 1980;21(2):171-3.
120. **Malyshev KV, Smirnov VV.** Generator of ^{68}Ga based on zirconium hydroxide. *Radiokhimiya*. 1975;17(1):137-40.
121. **Neirinckx RD, Davis MA.** Potential column chromatography generators for ionic Ga-68. I. Inorganic substrates. *J. Nucl. Med.* 1979;20(10):1075-9.
122. **Ambe S.** Ge-68-Ga-68 generator with alpha-ferric oxide support. *Appl. Radiat. Isot.* 1988;39(1):49-51.
123. **Bao B, Song M.** A new Ge-68/Ga-68 generator based on CeO_2 . *J. Radioanal. Nucl. Chem.-Lett.* 1996;213(4):233-8.
124. **Chakravarty R, Shukla R, Ram R, Venkatesh M, Dash A, Tyagi AK.** Nanoceria-PAN Composite-Based Advanced Sorbent Material: A Major Step Forward in the Field of Clinical-Grade $^{68}\text{Ge}/^{68}\text{Ga}$ Generator. *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2010;2(7):2069-75.

125. **Kurnevic G, Vishnevs V, Loiko E.** Coordination-Compounds of Germanium(iv) with Polyhydric Phenols and Dimethyl-Sulfoxide. *Zhurnal Neorg. Khimii.* 1974;19(3):693-6.
126. **Neirinckx RD, Layne WW, Sawan SP, Davis MA.** Development of an ionic ⁶⁸Ge-⁶⁸Ga generator III. Chelate resins as chromatographic substrates for germanium. *The International Journal of Applied Radiation and Isotopes.* 1982;33(4):259-66.
127. **Nakayama M, Haratake M, Ono M, Koiso T, Harada K, Nakayama H, et al.** A new ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator system using an organic polymer containing N-methylglucamine groups as adsorbent for ⁶⁸Ge. *Appl Radiat Isot.* 2003;58(1):9-14.
128. **Asti M, De Pietri G, Fraternali A, Grassi E, Sghedoni R, Fioroni F, et al.** Validation of (⁶⁸Ge)/(⁶⁸Ga) generator processing by chemical purification for routine clinical application of (⁶⁸Ga)-DOTATOC. *Nucl. Med. Biol.* 2008;35(6):721-4.
129. **Ocak M, Antretter M, Knopp R, Kunkel F, Petrik M, Bergisadi N, et al.** Full automation of (⁶⁸Ga) labelling of DOTA-peptides including cation exchange prepurification. *Appl Radiat Isot.* 2010;68(2):297-302.
130. **De Blois E, Sze Chan H, Naidoo C, Prince D, Krenning EP, Breeman WAP.** Characteristics of SnO₂-based ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga generator and aspects of radiolabelling DOTA-peptides. *Appl Radiat Isot.* 2011;69(2):308-15.
131. **Zhernosekov K, Harfensteller M, Moreno J, Leib O, Buck O, Tuerler A, et al.** Development of a novel metal-free ⁶⁸Ge/⁶⁸Ga radionuclide generator system. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2010;37(S2):S251-S251.
132. **Breeman WAP, de Jong M, de Blois E, Bernard BF, Konijnenberg M, Krenning EP.** Radiolabelling DOTA-peptides with ⁶⁸Ga. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2005;32(4):478-85.
133. **Blom E, Kozirowski J.** Ga-68-Autoclabeling of DOTA-TATE and DOTA-NOC. *Appl. Radiat. Isot.* 2012;70(6):980-3.
134. Directive 2001/83/CE du parlement européen et du conseil du 6 novembre 2001 instituant un code communautaire relatif aux médicaments à usage humain. :J.O.C.E n°L311, du 28 novembre 2001, p 67-128.
135. Volume 4 Good manufacturing practice (GMP) Guidelines. EudraLex; 2003.
136. Bonnes pratiques de fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé_Ministère du travail, de l'emploi et de la santé_Direction des Journaux Officiels. BO n°2011/8 bis, fascicule spécial.
137. **Elsinga P, Todde S, Penuelas I, Meyer G, Farstad B, Fivre-Chauvet A, et al.** Guidance on current good radiopharmacy practice (cGRPP) for the small-scale

- preparation of radiopharmaceuticals. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2010;37(5):1049-62.
138. Textes généraux sur la microbiologie. Méthodes de préparation des produits stériles 5.1.1. Pharmacopée Européenne 7.0; 2008.
 139. Directive 96/29/Euratom du conseil du 13 mai 1965 relative aux dangers résultants des rayonnements ionisants. (J.O.C.E L.159, du 29 juin 1996).
 140. Monographie du chlorure de Gallium (^{68}Ga) solution pour radiomarquage. Pharmeuropa - European Directorate for the Quality of Medicines; 2011.
 141. Impurities: Guidelines for residual solvents Q3C. International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use; 2011.
 142. **Barrall RC, Chakalian VM, Colombetti LG, Finston RA.** Purity tests of a ^{68}Ge - ^{68}Ga generator. *Int J Appl Radiat Isot.* 1971;22(3):149-54.
 143. **Mehard C, Volcani B.** Similarity in Uptake and Retention of Trace Amounts of Silicon-31 and Germanium-68 in Rat Tissues and Cell Organelles. *Bioinorganic Chemistry.* 1975;5(2):107-24.
 144. **Ando A, Ando I, Hiraki T, Hisada K.** Relation Between the Location of Elements in the Periodic Table and Various Organ-Uptake Rates. *Nucl. Med. Biol.* 1989;16(1):57-80.
 145. **Konijnenberg M, Breeman W.** Estimates for the biodistribution and dosimetry of ^{68}Ge in ^{68}Ga PET imaging. *J. Labelled Compds. Radiopharm.* 2009;52:S116.
 146. **Sabbioni E, Fortaner S, Bosisio S, Farina M, Del Torchio R, Edel J, et al.** Metabolic fate of ultratrace levels of GeCl_4 in the rat and in vitro studies on its basal cytotoxicity and carcinogenic potential in Balb/3T3 and HaCaT cell lines. *J. Appl. Toxicol.* 2010;30(1):34-41.
 147. **Neirinckx RD, Davis MA.** Potential column chromatography for ionic Ga-68. II: Organic ion exchangers as chromatographic supports. *J. Nucl. Med.* 1980;21(1):81-3.
 148. **Strelow FW, Victor AH.** Quantitative separation of Al, Ga, In, and Tl by cation exchange chromatography in hydrochloric acid-acetone. *Talanta.* 1972;19(9):1019-23.
 149. **Zhernosekov KP, Filosofov DV, Baum RP, Aschoff P, Bihl H, Razbash AA, et al.** Processing of generator-produced ^{68}Ga for medical application. *J. Nucl. Med.* 2007;48(10):1741-8.
 150. **Carlton JE, Hayes RL.** Rapid separation of generator-produced gallium-68 from EDTA eluate. *Int J Appl Radiat Isot.* 1971;22(1):44-5.

151. **Rossouw DD, Breeman WAP.** Scaled-up radiolabelling of DOTATATE with Ga-68 eluted from a SnO₂-based Ge-68/Ga-68 generator. *Appl. Radiat. Isot.* 2012;70(1):171-5.
152. ABX Datasheet Product Number 9717 DOTA-NOC GMP [Internet]. [cité 2012 août 8]. Available de: <http://www.abx.de/chemicals/9717.html>
153. **Decristoforo C, Knopp R, von Guggenberg E, Rupprich M, Dreger T, Hess A, et al.** A fully automated synthesis for the preparation of Ga-68-labelled peptides. *Nucl. Med. Commun.* 2007;28(11):870-5.
154. Monographie de l'édotréotide marqué au Gallium (68Ga) injectable. Pharmeuropa_European Directorate for the Quality of Medicines; 2011.
155. **Serdons K, Verbruggen A, Bormans G.** The Presence of Ethanol in Radiopharmaceutical Injections. *J. Nucl. Med.* 2008;49(12):2071-2071.
156. Monographies des formes pharmaceutiques. Préparations parentérales. Monographie européenne 7.0; 2008.
157. Monographies des méthodes analytiques. Essai de stérilité 2.6.1. Pharmacopée européenne 7.1; 2011.
158. Bonnes Pratiques de Préparation. Chap. 9.6 contrôles des préparations terminées. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 2007;70.
159. Directive 2004/27/CE du parlement européen et du conseil du 31 mars 2004 modifiant la directive 2001/83/CE. (J.O.C.E n°L.136, du 30 avril 2004, p 34-57).
160. Bonnes Pratiques de Préparation. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 2007;
161. **Briand S.** Fabrication des médicaments expérimentaux radiopharmaceutiques stériles: exigences réglementaires et techniques [Th D Pharm]. Université de Nantes; 2008.
162. CHMP. Guidelines on radiopharmaceuticals EMEA/CHMP/QWP/306970/2007. EMA; 2007.
163. **Verbruggen A, Coenen HH, Deverre J-R, Guilloteau D, Langstrom B, Salvadori PA, et al.** Guideline to regulations for radiopharmaceuticals in early phase clinical trials in the EU. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging.* 2008;35(11):2144-51.
164. Bonnes pratiques de fabrication pour les médicaments à usage humain. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé_Ministère du travail, de l'emploi et de la santé_Direction des Journaux Officiels. BO n°2011/8 bis, fascicule spécial.

165. Bonnes Pratiques de Préparation. Chap. 6.4 Préparation de médicaments stériles_locaux et équipements. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé. 2007;50-1.
166. Brouillon de la monographie compounding of radiopharmaceuticals [Internet]. Pharmedropa - European Directorate for the Quality of Medicines; [cité 2012 août 8]. Available de: http://www.eanm.org/upload/event_files/PhEu234E.PDF
167. Volume 4 Good manufacturing practice (GMP)_Annexes. EudraLex; 2003.
168. Good practice for computerised systems in regulated GxP environnements. The Pharmaceutical Inspection Cooperation Scheme - PIC/S - Publications.
169. Volume 4 Good manufacturing practice (GMP)_Annexe 11. EudraLex; 2003.

L'ISPB-Faculté de Pharmacie de Lyon et l'Université Claude Bernard Lyon 1
n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les
thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

LAMESA Chloé

**Production de médicaments radiopharmaceutiques marqués au Gallium-68 :
évaluation des contraintes à l'hôpital**

Th. D. Pharma., Lyon 1, 2012, 122 p.

RESUME

La Tomographie par Emission de Positons (TEP) est une technique d'imagerie performante. Elle s'est imposée en médecine nucléaire grâce à l'examen au 18F-FDG dans le diagnostic tumoral.

Cependant, le développement de nouveaux médicaments radiopharmaceutiques reste encore anecdotique en TEP, limité notamment par la production des nouveaux radionucléides émetteurs de positons. Les générateurs produisant des émetteurs *in situ* permettent une meilleure accessibilité à ces nouveaux traceurs. Ainsi le générateur de Germanium-68 / Gallium-68 produit du Gallium-68, candidat intéressant pour sa période compatible avec l'imagerie et pour sa chimie avantageuse dans le marquage de molécules d'intérêt clinique.

En pratique, la mise en place de la préparation de médicaments radiopharmaceutiques marqués au gallium 68 crée de nouvelles contraintes.

L'émission de rayonnements de forte énergie impose l'automatisation complète de la synthèse pour des raisons de radioprotection du personnel. Le choix de l'automate est un point crucial dans le type d'activité développé par le service. Le choix du générateur ainsi que le choix du procédé de pré-élution sont également des éléments déterminants pour la méthode de fabrication. Enfin, le radiopharmacien devra considérer le niveau de qualité requis tant sur le plan des locaux que dans la formation du personnel.

Dans ce contexte, la récente publication des monographies européennes de l'éluat de Ga-68 et des analogues de la somatostatine radiomarqués paraît favorable à un essor des essais cliniques dans ce domaine et apparaît comme une volonté des autorités d'accompagner les radiopharmaciens dans le développement de cette nouvelle activité.

MOTS CLES

Radiopharmacie
Tomographie par émission de positons
Gallium-68
Médicaments expérimentaux

JURY

M. ZIMMER Luc, Professeur
M. PEYRIN Eric, Professeur
Mme DESRUET Marie-Dominique, Docteur en Pharmacie
M. DU MOULINET D'HARDEMARE Amaury, MCU

DATE DE SOUTENANCE

Jeudi 27 septembre 2012

ADRESSE DE L'AUTEUR

5, résidence du val profond – 91570 Bièvres